HLA UND DIABETES MELLITUS

Die Bedeutung immungenetischer Marker bei diabetischen Stoffwechselstörungen

Thomas Lander

1979

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 268177

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547005_0031

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Spiess

H L A u n d D i a b e t e s m e l l i t u s :

Die Bedeutung immungenetischer Marker bei diabetischen Stoffwechselstörungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Thomas Lander

aus

München

Jahr

1979

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. E. ALBERT
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. P. SCRIBA
Dekan:	Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Epidemiologie des Diabetes mellitus	
1.1.	Verbreitung und Bedeutung	1
1.2.	Familiäre Häufung	2
1.3.	Zwillingsstudien	2
2.	Ätiologie und Pathogenese des Diabetes mellitus	
2.1.	Hypothesen über den Vererbungsmodus	4
2.2.	Glukose-Belastungstests bei Blutsverwandten	5
2.3.	Mögliche immunologische Ursachen	8
2.3.1.	Virale Genese	8
2.3.2.	Autoimmunphänomene	9
3.	Die Bedeutung des Histokompatibilitätskomplexes bei der Entstehung des Diabetes mellitus	
3.1.	Die biologische Bedeutung der Histokompatibilitätsantigene	11
3.2.	HLA-assoziierte Erkrankungen	14
4.	HLA und Diabetes mellitus	
4.1.1.	Populationsstudien	17
4.1.2.	Familienstudien	17
4.1.3.	Zielsetzung	19
4.2.1.	Material	20
4.2.2.	Methodik	22
5.	Ergebnisse	
5.1.	HLA-Typisierung bei juvenilen Diabetikern	25

		Seite
5.1.1.	HLA-Phäno- und Genotypfrequenzen	25
5.1.2.	HLA-Haplotypfrequenzen	29
5.1.3.	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	31
5.2.	Orale Glukosebelastung bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern	33
5.2.1.	Häufigkeit von Störungen der Glukosetoleranz und Insulinantwort	33
5.2.2.	Segregationsanalyse	35
5.2.3.	Assoziation mit HLA-Antigenen	36
5.2.4.	Einfluß von Übergewicht und Alter auf die OGTT-Ergebnisse	38
6.	Diskussion	
6.1.1.	HLA-Phäno- und Genotypfrequenzen	41
6.1.2.	Relatives Erkrankungsrisiko	43
6.1.3.	HLA-Haplotypfrequenzen	45
6.1.4.	Heterogenität des juvenilen Diabetes mellitus	46
6.1.5.	Hypothesen über die Assoziation HLA-juveniler Diabetes mellitus	51
6.1.5.1.	Direkte Beteiligung an der Pathogenese	51
6.1.5.2.	Indirekte Beteiligung an der Pathogenese	54
6.2.	Familienuntersuchung	55
6.2.1.	Vergleich mit anderen Untersuchungen	56
6.2.2.	Kritik der angewandten Methodik	58
6.2.3.	Segregation von Störungen der Glukosetoleranz und Insulinantwort mit HLA-Antigenen bzw. -Haplotypen in den Familien von juvenilen Diabetikern	61
7.	Zusammenfassung	
8.	Literaturverzeichnis	
9.	Lebenslauf	

HLA und Diabetes mellitus:
Die Bedeutung immungenetischer Marker bei diabetischen Stoffwechselstörungen

1. Epidemiologie des Diabetes mellitus

1.1. Verbreitung und Bedeutung

In der Bundesrepublik Deutschland sind gegenwärtig etwa 2 - 3% der Bevölkerung manifest an Diabetes mellitus erkrankt. Annähernd der zehnte Teil davon besteht aus juvenilen Diabetikern, d.h. Patienten, bei denen sich die Erkrankung vor dem 35. Lebensjahr manifestiert hat. Darüber hinaus ist mit einer beträchtlichen Dunkelziffer zu rechnen, die sich aus subklinischen (chemical diabetes) und nicht erkannten Fällen zusammensetzt. Dies wurde durch breitangelegte Screeninguntersuchungen bestätigt. Mit der Gewinnung tierischen Insulins aus Rinder- und Schweinepankreas sowie durch die Entdeckung der blutzuckersenkenden Wirkung von Sulfonylharnstoffen und Biguaniden konnte die Verlaufsprognose des Diabetes wesentlich verbessert werden. Aus genetischer Sicht führt diese Entwicklung zu einem unerwünschten Begleiteffekt, da ohne natürliche Selektion die Zahl von Anlageträgern in Zukunft immer mehr zunehmen wird. Die Folge sind neue und schwerwiegende Probleme sowohl auf sozialpolitischer Ebene als auch im sozialmedizinischen Bereich: Schon jetzt ist ein Engpaß in der Versorgung mit tierischem Insulin abzusehen, der durch die zunehmende Industrialisierung von Agrarstaaten noch weiter verschärft wird. Viele Diabetiker treten vorzeitig in den Ruhestand oder werden durch Sekundärkomplikationen zu Frühinvaliden. Dies verursacht für die Träger von Sozialleistungen erhebliche Belastungen. Aus ärztlicher Sicht stehen zwei Problemkomplexe im Vordergrund: Sekundär- und Spätkomplikationen, sowie Fragen bei der Familienplanung.

1.2. Familiäre Häufung

Die Idee von der Erblichkeit des Diabetes mellitus ist nicht neu. Bereits den altindischen Ärzten C h a r a k a , S u s h r u t a und V a g h b a t a , die im Zeitraum 400 vor bis etwa 500 nach Christi lebten, war aufgefallen, daß das Kardinalsymptom der Erkrankung, "honigsüßer Urin", in manchen Familien besonders häufig auftrat, wobei es sich meistens um Blutsverwandte handelte (42, 204). Weitere Zeugnisse lieferte uns der Genfer Arzt R o n d e l e t i u s , der um 1600 drei familiäre Doppelfälle von Diabetes beschrieb (183). P i n c u s und W h i t e führten 1933 als Erste eine wissenschaftlich fundierte, umfangreiche Familienstudie über Diabetes mellitus durch (173). Befragung und Analysen bei Verwandten ersten Grades von 523 Diabetikern ergaben im Vergleich mit 153 gesunden Kontrollpersonen signifikante Unterschiede: 8.3% der Eltern und 5.9% der Geschwister von Diabetikern waren ebenfalls diabetisch, während in der Kontrollgruppe nur bei 1.9% bzw. 0.6% ein Diabetes eruiert werden konnte. In den darauffolgenden Jahren wurde die anamnestische Methode, die nur klinisch manifeste Fälle erfaßte, von empfindlicheren Testverfahren, den sogenannten Belastungstests abgelöst. So ermittelten C o n n und F a j a n s mit Hilfe eines Cortison-Glucose-Toleranztestes unter den Blutsverwandten von diabetischen Patienten 26% latente und manifeste Diabetiker gegenüber 4% in Kontrollgruppen (48). Neueren Statistiken zufolge dürften ca. 30% der Verwandten ersten Grades latent oder manifest diabetisch sein. Wenngleich damit die Erblichkeit des Diabetes ausreichend bewiesen ist, erlaubt der Befund der familiären Häufung allein noch keine genetische Analyse des Erbganges.

1.3. Zwillingsstudien

Verschiedene Autoren (210, 146, 222, 207) versuchten deshalb durch Untersuchungen an Zwillingspaaren mehr zu erfahren. Im

Fall einer Erkrankung rein genetischer Herkunft mußte bei eineiigen, also genetisch identischen Zwillingen im pathologischen Stoffwechselverhalten 100% Konkordanz erwartet werden. Tatsächlich aber wurde Konkordanz nur in ca. 50 bis 80% der Fälle beobachtet. Es drängt sich daher die Vermutung auf, daß bei der Entstehung des Diabetes neben genetischen auch noch andersartige, diabetogene Faktoren mitspielten. Die meisten der zum Untersuchungszeitpunkt überwiegend jugendlichen Zwillingspaare waren unter annähernd identischen Umweltbedingungen aufgewachsen. Zur Abklärung der beobachteten Diskordanz wurden die Testpaare über längere Zeiträume kontrolliert. Die Ergebnisse waren zum Teil widersprüchlich. T h e n B e r g (210) fand bei eineiigen Zwillingen mit fortschreitendem Lebensalter und unter Verwendung besonders empfindlicher Untersuchungstechniken schließlich doch eine Konkordanz bei 100%. C e r a s i und L u f t entdeckten mit ihrer speziellen Glucoseinfusionstechnik bei 12 von 13 nachuntersuchten Zwillingen manifeste diabetische Stoffwechselstörungen oder wenigstens subklinische Beeinträchtigungen der Glucosetoleranz und / oder Insulinantwort (39). P y k e fand dagegen auch nach sechs Jahren bei mehrmals wiederholten Glucosetoleranztests keine wesentlichen Abweichungen von den anfänglich festgestellten Werten (175). Allerdings bemerkte er übereinstimmend mit anderen Untersuchern, daß die Zahl konkordanter Paare im Verhältnis zur Zahl der diskordanten in höheren Altersgruppen deutlich zunahm. So fand P y k e bei 26 Paaren über 50 Jahre keinen einzigen Diskordanzfall, während sich in der Gruppe unter 40 Lebensjahren konkordante und diskordante Zwillingspaare mit 32:32 genau die Waage hielten.

2. Ätiologie und Pathogenese des Diabetes mellitus

2.1. Hypothesen über den Vererbungsmodus

N e e l , der sich sehr eingehend mit der Ätiologie des Diabetes befaßt hat, bezeichnete diese Erkrankung einmal als "Alptraum des Genetikers" (156). Nach annähernd 50 Jahren intensiver Diabetesforschung erscheint der Erkenntnisgewinn ziemlich bescheiden. Alle Aussagen über Zahl, Lokalisation und Vererbungsmodus der für die Prädisposition verantwortlichen Gene sind als reine Hypothesen zu betrachten und werden als solche auch lebhaft umstritten. Bis zu Beginn der sechziger Jahre stand die Diskussion über Homo- und Heterogenität im Vordergrund, wobei ein Erbgang gemäß den klassischen Mendelschen Regeln angenommen wurde. P i n c u s und W h i t e plädierten für Rezessivität bei homogener Vererbung (173), während C a m m i d g e als erster die Heterogenitätshypothese aufstellte (35). H a r r i s entschied sich daraufhin für einen Kompromiß: Homozygotie bei juveniler Form, Heterozygotie bei Erkrankung im Erwachsenenalter (95). Aus der Rezessivitätshypothese, die Ende des vergangenen Jahrzehnts wohl die meisten Anhänger aufwies, ergab sich für ein Kind mit zwei diabetischen Eltern ein Erkrankungsrisiko von 100%, bei einem erkrankten Elternteil von 50%. Das Erkrankungsrisiko für ein Geschwister eines diabetischen Kindes betrug 25%. Diese Angaben hingen zusätzlich vom Lebensalter und von der unterschiedlichen Penetranz der postulierten genetischen Faktoren ab. Daneben wurde über gonosomale, autosomal-dominante und auch additive Vererbungsmöglichkeiten diskutiert, bis es schließlich keine denkbare Version mehr gab, die nicht irgendwann bewiesen und später wiederum von anderer Seite widerlegt worden wäre.

Nachdem Möglichkeiten, die Herkunft des Diabetes auf chromosomaler Ebene abzuklären, praktisch nicht gegeben waren

und auch biochemische Untersuchungen zur Klärung der Ätiologie sich als äußerst schwierig erwiesen, wurde vor allem die Verfeinerung epidemiologischer und klinischer Untersuchungsmethoden vorangetrieben. Ein wesentlicher Schritt war die Berücksichtigung der klinischen Heterogenität der untersuchten Kollektive und die Unterteilung in verschiedene Altersgruppen. Bei der Analyse von Familienstudien wurde meistens das sogenannte k-Verhältnis nach P e n r o s e (169) berechnet, d.h. der Quotient aus Morbiditätsrate bei Verwandten ersten Grades und bei der Gesamtpopulation. S i m p s o n stellte bei der Berechnung von k für verschiedene Untergruppen fest, daß der k-Wert proportional zum Anstieg des Manifestationsalters immer kleiner wurde (196).
B a r r a i und C a n n führten daraufhin unter Verwendung der "maximum likelihood"-Analyse nach M o r t o n (152) Segregationsanalysen auf der Basis des Simpsonschen Zahlenmaterials durch, aus denen sie eine Anpassung an die Rezessivitätstheorie herauszulesen glaubten (195).
S i m p s o n hingegen vermutete einen multifaktoriellen Vererbungsmodus. In jüngster Zeit befaßten sich G o o d m a n und C h u n g (22) nochmals mit der kanadischen Studie (197) und überprüften mittels der komplizierten Segregationsanalyse nach M o r t o n (153) die Anpassung der Ergebnisse an Mono- bzw. Polygenitätsmodelle. Es zeigte sich, daß die Ergebnisse auf sämtliche erörterten Hypothesen zutreffen konnten, ohne einen klaren Trend erkennen zu lassen.

2.2 Glukose-Belastungstests bei Blutsverwandten

Untersuchungen der Glucosetoleranz erbrachten weitere Hinweise für die genetische Heterogenität des Diabetes mellitus. K e e n hatte schon 1957 klinisch gesunde Menschen

getestet und dabei Verwandte ersten Grades von Diabetikern der Probandengruppe ohne familiäre Belastung gegenübergestellt (111). In der vorbelasteten Gruppe war die Glucosetoleranz bei 25% vermindert, während der Anteil bei den übrigen nur 14% betrug. Aus der statistischen Analyse sämtlicher Glucosetoleranzreihenuntersuchungen ergaben sich typische Gaußsche Verteilungsmuster statt der bei monogenen Erkrankungen erwarteten bi- oder trimodalen Verteilung (68). Damit lag es nahe, das Auftreten von Störungen der Glucosetoleranz auf einen multifaktoriellen Vererbungsmodus zurückzuführen. In diesem Fall mußten neben unbekannten exogenen Faktoren Störungen an verschiedenen Genen angenommen werden, etwa durch Muatationen bewirkt, wobei sich diese abgeänderten Gene auf verschiedenen Genorten befinden können. L e s t r a d e t et al. (126) und T a t t e r s a l l und F a j a n s (208) untersuchten Familien von jugendlichen Diabetikern mit unterschiedlicher klinischer Symptomatik. So unterschieden sie den Patiententyp mit geringem meßbaren Insulindefizit, relativ stabiler Stoffwechselregulation und geringer Ketoazidoseneigung als eigentlichen Erwachsenendiabetes mit frühzeitiger Manifestation vom klassischen juvenilen Typ mit praktisch aufgehobener Insulinproduktion und schwer kontrollierbaren Schwankungen. Dabei fiel auf, daß sich unter den Verwandten der per definitionem typischen juvenilen Diabetiker deutlich weniger subklinisch oder manifest diabetische Personen befanden, als in den Familien des sogenannten Erwachsenentyps. Vergleichsstudien zwischen eineiigen und zweieiigen Zwillingen lieferten weitere Argumente für einen polygenen Vererbungsmodus. Bei einer monogen vererbten Krankheit sollte bei eineiigen Paaren Konkordanz bezüglich der diabetischen Stoffwechsel-

störung höchstens viermal so häufig wie bei zweieiigen Zwillingen zu erwarten sein. Hingegen lagen die beobachteten Zahlen zwischen 4.4 (106) und 16 (198) zu 1. Vergleichende Untersuchungen bei Kindern mit zweifacher elterlicher Diabetesvorbelastung und solchen mit nur einem diabetischen Elternteil ergaben in Analogie zu den erwähnten Zwillingsstudien ein Verhältnis von 5:1 (198). Werte über 2:1 sprechen für einen polygenen Vererbungsmodus. Weitere Hinweise für das Vorliegen einer polygenen Übertragung finden sich im übrigen auch bei verschiedenen angeborenen Krankheiten mit nachgewiesenen chromosomalen Defekten. Hierzu gehören z.B. das Klinefelter- und das Down-Syndrom, die neben verschiedenen Organ- und Gliedmaßenmißbildungen und Störungen der Synthese von Sexualhormonen nicht selten auch einen Diabetes mellitus aufweisen (179).

Nicht nur die zum Diabetes mellitus prädisponierenden Gene, sondern auch die schließlich auslösenden, vorwiegend exogenen Faktoren sind immer noch weitgehend unbekannt. Dies gilt vor allem für die Entstehung des juvenilen Diabetes mellitus. Im Gegensatz dazu können bei Altersdiabetikern häufig belastende Faktoren nachgewiesen werden. An erster Stelle steht dabei ein deutliches Übergewicht, das in annähernd 90% der Fälle vorliegt. Zunahme der Fettzellen bewirkt eine Erhöhung des Insulinbedarfs, der von den Betazellen des Pankreas zunächst durch eine Steigerung der Sekretionsleistung gedeckt wird. Bei adipösen Personen ist daher die basale Insulinsekretion gegenüber Normalgewichtigen meistens erhöht. Erst später kommt es als Ausdruck eines relativen Insulindefizits zu einer Verschlechterung der Glucosetoleranz. Diese ist durch Gewichtsreduktion meistens reversibel. Herzinfarkt, starker Stress, Schwangerschaft und auch Hungern können in der Regel passagere Störungen der

Glucosetoleranz hervorrufen. Dagegen stellt der juvenile Diabetes mellitus eine irreversible Stoffwechselerkrankung dar, die sich meistens ohne Vorankündigung manifestiert, nur in Ausnahmefällen von erkennbaren Belastungsfaktoren wie Adipositas usw. begleitet wird, und meist durch ein weitgehendes Erliegen der körpereigenen Insulinproduktion und -sekretion gekennzeichnet ist. Remissionen stellen sich nur sehr selten ein und sind dann nur vorübergehend. Untersuchungen an Bauchspeicheldrüsen verstorbener Diabetiker ergaben einen gegenüber nicht an Diabetes Verstorbenen verminderten Insulingehalt (113, 229). Neben anderen haben in den letzten Jahren C e r a s i und L u f t die Bedeutung der Insulinsekretion bei der Pathogenese des Diabetes mellitus bei Jugendlichen und Kindern untersucht (40, 41). Dazu testeten sie den Kurvenverlauf des Seruminsulinspiegels nach Glucosegabe bei Diabetikern und bei genetisch vorbelasteten, klinisch gesunden Personen, sogenannten Prädiabetikern. Diese Untersuchungen wurden mit eineiigen Zwillingen durchgeführt. Auch bei den nichtdiabetischen Zwillingsgeschwistern fanden sich bereits Anzeichen einer beginnenden Regulationsstörung. Ähnlich wie ihre manifest erkrankten Geschwister reagierten sie auf die Glucosestimulation mit einem deutlich herabgesetzten und zeitlich verzögerten Seruminsulinanstieg. Offenbar wurden die genetisch angelegten Normabweichungen zum Zeitpunkt der Untersuchung ausreichend kompensiert. Deshalb mußte die Existenz zusätzlicher endokriner oder sonstiger Störfaktoren angenommen werden, die letztlich zum Ausfall der Kompensationsmöglichkeiten des Stoffwechsels führen.

2.3. Mögliche immunologische Ursachen

2.3.1. Virale Genese

In letzter Zeit häuften sich Hinweise, daß das menschliche

Immunsystem bei der Pathogenese des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle spielen könnte. Die wichtigsten Ergebnisse waren: 1. der Nachweis erhöhter Virusantikörper-Titer bei einer überdurchschnittlich hohen Zahl von juvenilen Diabetikern und 2. die Entdeckung von Antikörpern, die gegen Inselzellgewebe gerichtet sind (P.I.C.A. = pancreatic isletcell antibodies). G a m b l e fand bei einer unerwartet hohen Zahl von juvenilen Diabetikern virusneutralisierende Antikörper, die gegen Coxsackie B4 und andere Viren gerichtet waren (79, 80). C r a i g - h e a d stieß bei seinen Untersuchungen auf ähnliche Befunde (55). Tierversuche mit Mäusen ergaben, daß Coxsackie-B-Viren und bestimmte Varianten des Encephalomyokarditis-Virus imstande sind, pankreatisches Inselzellgewebe anzugreifen und zu zerstören (50, 30, 53, 45, 31, 120). Interessant war dabei, daß nur bestimmte Mäusestämme eine Empfänglichkeit für diabetogene Viren zeigten, was als Hinweis auf eine genetische Determinierung gewertet werden kann (54). Epidemiologische Untersuchungen an Bewohnern der Pribilof-Inselgruppe, die von einer besonders ernsten Coxsackie-B4-Virusepidemie heimgesucht worden waren, ließen allerdings keine positive Korrelation mit der Morbidität des Diabetes mellitus erkennen (66). Immerhin kommt der Virusinfekt als eine der verschiedenen Möglichkeiten in Frage, die zum Ausbruch diabetischer Stoffwechselstörungen führen können, wobei die genetisch bedingte Krankheitsempfänglichkeit entscheidend sein dürfte.

2.3.2. Autoimmunphänomene

Eine andere mögliche Ursache in der Pathogenese des juvenilen Diabetes mellitus ist das Auftreten organspezifischer Autoimmunphänomene. Ein indirekter Beweis dafür ist die Tatsache, daß klinische und auch latente diabetische Stoffwechselstörungen häufig in Gesellschaft anderer endo-

kriner Störungen mit nachgewiesener organspezifischer Autoimmunität auftreten. Hierzu gehören der Morbus Basedow, das Myxödem, die Hashimoto Thyreoiditis, die idiopathische Addisonsche Erkrankung, der hypergonadotrope Hypogonadismus und der idiopathische Hypothyreoidismus (12, 57, 157, 159).

Weiterhin ist beim juvenilen Diabetes mellitus kurz nach der Manifestation als charakteristischer Befund eine lymphozytäre Infiltration in und um Langerhans'sche Inseln zu beobachten (84, 108, 121). Verschiedene Arbeitsgruppen konnten inzwischen direkte Beweise dafür erbringen, daß bei der Pathogenese des juvenilen Diabetes mellitus humorale und zelluläre, organspezifische Autoimmunphänomene beteiligt sein könnten. N e r u p et al. fanden vor allem kurz nach Ausbruch der Erkrankung bei juvenilen Diabetikern Anzeichen einer antipankreatischen zellulären Immunität (A.P.C.I.) gegen Antigendeterminanten des endokrinen Pankreas (158, 160, 166). M a c C u i s h et al. konnten N e r u p's Befunde durch eigene Untersuchungen bestätigen (135, 138). Durch Verwendung von Antigenhomogenaten aus verschiedenen Organen (Leber, Niere, Pankreas) und von verschiedenen Spezies (Mensch, Schwein, Rind) konnte mittels des Leukozytenmigrationstests (232, 16) nachgewiesen werden, daß die beobachteten Immunitätszeichen eindeutig organspezifisch auftraten, ohne dabei eine Artspezifität aufzuweisen. B o t a z z o et al., I r v i n e et al., L e n d r u m et al. und N e r u p et al. (24, 122, 136, 123, 162) berichteten über das Vorkommen von humoralen IgG-Antikörpern gegen pankreatische Inselzellen. Als Nachweismethode wurde mit Modifizierungen eine indirekte Immunfluoreszenztechnik (137) verwendet. Zum Zeitpunkt der Diagnose wurden bei etwa 60 - 85% der juvenilen Patienten P.I.C.A. (pancreatic islet-cell

antibodies) gefunden. Dagegen traten Antikörper bei insulinunabhängigen Patienten mit MOD (maturity onset diabetes) und auch bei insulinbedürftigen Erwachsenen-Diabetikern vom MOD-Typ mit wesentlich niedrigerer Frequenz auf (124) und unterschieden sich in der Häufigkeit nicht von den Prozentangaben bei der Gesamtpopulation (0 - 5%) (98). In Tierexperimenten konnte durch Verabreichung von Homogenaten isolierter Langerhans'scher Inselzellen ein dem juvenilen Diabetes mellitus ähnliches Syndrom erzeugt werden, das durch eine verminderte Glucosetoleranz, zelluläre Immunität gegen endokrine Pankreasanteile, ein "Insulitis"-Bild mit lymphozytärer Infiltration der Inselzellen und durch B-Zelldegeneration bzw. Zelldestruktion charakterisiert war (161). Die exakte biochemische Struktur der pankreatischen Antigendeterminanten konnte bis heute ebensowenig geklärt werden, wie die eigentliche Ursache für die Entstehung der beschriebenen humoralen Antikörper.

3. Die Bedeutung des Histokompatibilitätskomplexes bei der Entstehung des Diabetes mellitus

3.1. Die biologische Bedeutung der Histokompatibilitätsantigene

Die Identifikation von Genen, die für die Determination immunbiologischer Phänomene verantwortlich sind, und Untersuchungen über die Kontrollfunktionen solcher Gene bei immunbiologischen Phänomenen ermöglichten es, detaillierten Einblick in die Aktionsmechanismen der Immunität zu gewinnen. Ein Gebiet, auf dem in den letzten Jahren besonders rasche Fortschritte erzielt wurden, ist das System der Transplantationsantigene - auch als Histokompatibilitätssystem bekannt - dem u.a. auch das HLA-System (human

leukocyte antigens) zugerechnet wird. Wurde die biologische Bedeutung dieser Antigensysteme bis vor wenigen Jahren noch vor allem in ihrer Funktion als Gewebsantigene (15) vermutet, die zu Abstoßungsreaktionen nach Organ-, Knochenmarks- und Hauttransplantationen führen können, so rücken heute immer mehr grundsätzliche immunologische Funktionen, die bei der Entstehung verschiedenartiger Erkrankungen eine Rolle spielen könnten, in den Vordergrund. Untersuchungen am MHC (major histocompatibility complex) des Menschen und am Äquivalent bei der Maus dem H-2 Komplex haben klar gezeigt, daß die MHC-Gene eine Reihe von peptidartigen Molekülen codieren, die an Kontrollmechanismen von Immunreaktionen maßgeblich beteiligt sind (15a, 194). Die wichtigsten dieser Mechanismen, für die eine Abhängigkeit von MHC-Genen gezeigt werden konnte, sind folgende (zit. nach Ref. Nr. 15b):

1. Die Ausprägung von Antigenen, die gewebsspezifische (Haut, Organe, Knochenmark) Abstoßungsvorgänge stimulieren und die Stimulation spezifischer, zytolytischer T-Zellen (194).
2. Die spezifische Stimulation von T-Zellen gegen Antigendeterminanten, die auf Zellmembranen lokalisiert sind und entweder auf Grund viraler Veränderungen des genetischen Materials (235) oder durch chemische Modifizierung (192), bzw. im Gefolge maligner Entartungsreaktionen (85) entstanden sind.
3. Die gemischte Leukozytenreaktion und die Graft-versus-host-Reaktion (194) (siehe unter 1.)
4. Die Kontrolle spezifischer Immunantworten durch sogen. Ir-Gene (immune response), welche die Produktion von Antikörpern des Thymus-Systems bestimmen (15a, 13).
5. Die Kontrolle einer spezifischen T-Zellsuppression durch sogen. Suppressorgene (14, 62).
6. Die Kontrolle eines Antigens, das auf der Membran von

Suppressorzellen (154) bzw. sogen. Suppressorfaktoren gefunden wurde (205).
7. Die Regulation des Zusammenspiels von T- und B-Zellen bei sekundären Immunreaktionen mit IgG-Anstieg (109).
8. Die Kontrolle von Makrophagen, die Antigene zuerst phagozytieren und sie danach den spezifischen T-"Killerzellen" zuführen, wobei das H-2-System dieser Makrophagen in einer weiteren Funktion auch an sekundären Immunreaktionen (185, 69, 172) bzw. bei verzögerten allergischen Reaktionen beteiligt ist (145).
9. Die Kontrolle von Komplementfaktoren, die bei der Bildung von Immunkomplexen verbraucht werden, durch Gene des MHC, bzw. diesem eng benachbarte Gene (77).

Aus den angeführten Beobachtungen geht deutlich hervor, daß der MHC der Säugetiere eine äußerst wichtige Funktion als übergeordnetes Kontrollzentrum verschiedener immunologischer Abwehrmechanismen ausübt. Störungen dieses komplexen Systems führen entweder zum Versagen der immunbiologischen Schutzmechanismen bei Konfrontation mit viralen, bakteriellen, chemischen und sonstigen exogenen Noxen, oder verursachen die Bildung von Reaktionsprodukten, die möglicherweise aufgrund molekularer Strukturveränderungen pathogenetisch wirksam werden können. Die erste Beobachtung einer Assoziation von Histokompatibilitätsantigenen mit der Empfänglichkeit für eine Erkrankung stammt von L i l l y , der 1965 feststellte, daß verschiedene, genetisch verwandte Mäusestämme eine Empfänglichkeit für die Groß-Virus Leukämie aufwiesen, andere dagegen nicht. Durch Kreuzungsversuche fand er heraus, daß die Empfänglichkeit mit dem MHC der Mäuse, d.h. dem H-2 Locus gekoppelt war (129). Derartige Empfänglichkeitsgene wurden in den darauffolgenden Jahren noch für eine Reihe anderer Erkrankungen, wie z.B. Mammatumor-Virus, lymphozytäre Choriomeningitis, Auto-

immunthyreoiditis und Toxoplasmose entdeckt (155, 216, 219, 225).

Die bei der Maus und anderen Nagetieren beobachteten Zusammenhänge zwischen H-2-System und der Kontrolle immunbiologischer Reaktionen lassen sich etwas modifiziert grundsätzlich auch auf die Verhältnisse bei Primaten (7) und speziell beim Menschen übertragen. Im Hinblick auf die Analogie zwischen den Haupthistokompatibilitätssystemen (MHC) beim Menschen, HLA, und bei der Maus, H-2, ist es wichtig, festzustellen, daß bei beiden Systemen die genetisch codierte Kontrolle immunbiologischer Funktionen verschiedenen Unterregionen (Subloci) unterliegt - bei der Maus vor allem K- und D-Locus (235, 67, 21, 86) -, die auf den Genloci der Histokompatibilitätssysteme repräsentiert sind. Beim Menschen wurde die Genregion der "klassischen" Transplantationsantigene, die einen Teil des Chromosomes Nr. 6 einnimmt, in die Subregionen HLA-A, B und C unterteilt. Diese Antigene werden entsprechend der in vitro Nachweismethode etwas vereinfacht auch als serologisch definierte (SD) Antigene bezeichnet. Sie sind auf der Oberfläche aller kernhaltigen Zellen und auf Blutplättchen vorzufinden. Ein Modell der SD Loci und der Allele des menschlichen MHC ist in Figur 1 dargestellt. Daneben sind weitere Histokompatibilitätssysteme bekannt, deren Genloci dem HLA-System eng benachbart sein sollen. Dazu zählt z.B. das MLC-System (mixed lymphocyte culture), oder HLA-D-Locus genannt, das auf dem "in vitro Nachweis" von LD-Antigenen (lymphocyte defined) basiert, und neben dem HLA-System am besten erforscht ist.

3.2. HLA-assoziierte Erkrankungen

Die Ära der Assoziation von bestimmten HLA-Antigenen mit verschiedenen Erkrankungen wurde 1967 von A m i e l ein-

geleitet, als er berichtete, daß Patienten mit M.Hodgkin eine deutlich über den Erwartungswerten liegende Frequenz eines damals noch "4 C" genannten Antigens aufwiesen (4). Dieser ersten "HLA and Disease"-Studie folgten bis heute zahlreiche weitere Untersuchungen, die nicht selten sehr widersprüchliche Ergebnisse zustandekommen ließen. Das breite Feld der Erkrankungen, bei denen bis heute eine Assoziation mit HLA-Antigenen vermutet oder klar nachgewiesen wurde, kann in vier Hauptgruppen unterteilt werden:

1. Infektionskrankheiten:
Infektiöse Mononukleose (148), Influenza (226), Streptokokkeninfekte (119), Yersinia-Arthritis (1), Poliomyelitis (150), u.a.

2. Neoplastische Erkrankungen:
Chorioncarcinom (128, 147, 101, 181, 5, 6), Mammacarcinom (206, 140, 167, 49), maligne Lymphome (3, 71, 76, 74, 215, 112, 104, 75, 65, 178, 17, 47, 149, 233), Leukämien (221, 117), u.a.

3. Autoimmunerkrankungen, Allergische Erkrankungen, Kollagenosen:
Hashimoto Thyreoiditis (180, 23), M.Addison (170, 174), "Ragweed hay fever" (139, 127), systemischer Lupus Erythematodes (90, 19), u.a.

4. Verschiedene Erkrankungen unklarer Genese:
Spondylarthritis ankylopoetica (190, 28, 34), M.Reiter (227, 231, 29), Psoriasis (201, 118, 223), Diabetes mellitus (193, 72), u.a.
Tabelle I bietet eine Aufstellung der bisher durch statistische Signifikanz gesicherten HLA-Assoziationen.

Über den ursächlichen Zusammenhang der beschriebenen Assoziation verschiedener Erkrankungen mit HLA-Antigenen wur-

Tabelle 1 Liste der gesicherten HLA- Assoziationen

Erkrankung	HLA
Zöliakie	B8
Erwachsenensprue	B8
Dermatitis herpetiformis	B8
Ankylosierende Spondylitis (M. Bechterew)	B 27
Reiter Syndrom	B 27
Juvenile rheumatoide Arthritis	B 27
Arthritis psoriatica	B 27,B13,B17,BW16
Psoriasis vulgaris	B13,B17
Multiple Sklerose	B3,B7, DR102 (=MD-Ti)
Chron. aggressive Hepatitis	B8
Myasthenia gravis	B8
M. Addison	B8
Juveniler Diabetes mellitus	B8,BW15

den schon zahlreiche Hypothesen aufgestellt (siehe auch Diskussion). Diese leiteten sich vor allem von wiederum hypothetischen Vorstellungen über die Pathogenese der entsprechenden Erkrankungen ab. Deshalb ist bei der Bewertung der beobachteten Assoziationsphänomene immer zu berücksichtigen, daß es sich dabei um Modelle handelt, die durch den experimentellen Nachweis der "direkten" Wirkung der Histokompatibilitätsantigene erst noch zu beweisen sind. Immerhin fallen bei den diskutierten Erkrankungen grundsätzliche Gemeinsamkeiten auf, die zu einer Erklärung beitragen könnten:

1. Sie treten überwiegend familiär gehäuft auf.
2. Bei der Pathogenese scheinen immunbiologische Mechanismen maßgeblich beteiligt zu sein.
3. Die große Mehrzahl der gesicherten Assoziationen betrifft Antigene des HLA B-Locus.
4. Bei vielen Erkrankungen häufen sich Hinweise, daß auch zu anderen, den SD Loci benachbarten Histokompatibilitätskomplexen Assoziationen bestehen.
5. In der Regel sind Erkrankungen, die mit einem bestimmten HLA-Antigen assoziiert sind, untereinander nosologisch verwandt: Z.B. entstammen die HLA B27 assoziierten Erkrankungen durchwegs dem rheumatoiden Formenkreis (siehe Tabelle I), die HLA B8 assoziierten der Gruppe der Autoimmunkrankheiten (stets Autoantikörper nachweisbar!); HLA D assoziierte Erkrankungen weisen sich häufig durch familiäre Häufung bei geringer genetischer Penetranz, Rezessivitätsneigung bzw. multifaktorieller Genese aus, wobei Slow-virus-Erkrankungen oder zelluläre und humorale Immunphänomene eine wesentliche Rolle zu spielen scheinen.

Fig. 1 Modell des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) beim Menschen

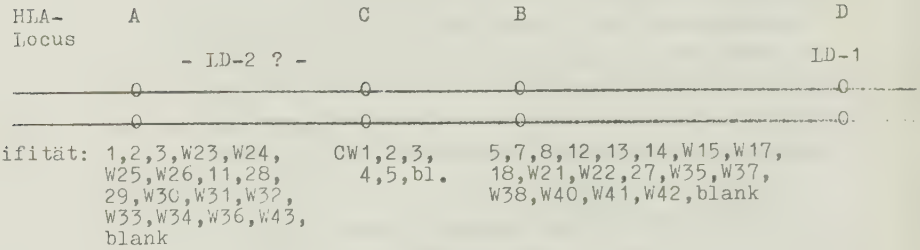


Fig. 2 Vererbungsmodus von HLA Antigenen bzw. Haplotypen am Beispiel einer Familie

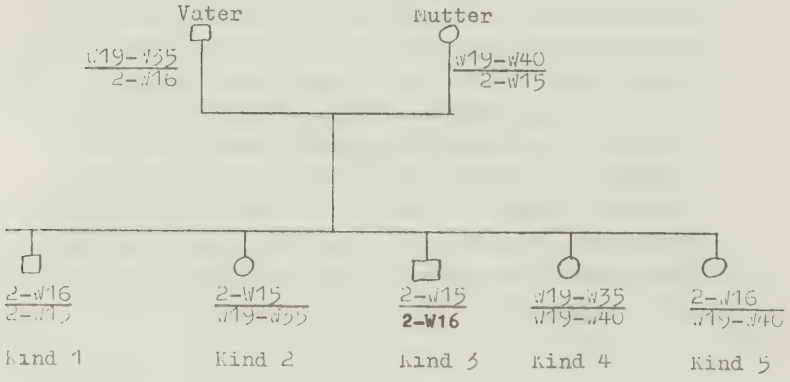


Tabelle 11 Gesammelte HLA Phänotypfrequenzdaten bei juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern und Kontrollgruppen (Report der "HLA and Disease Registry of Copenhagen"1976)

HLA	Referenz	Patienten pos.	(%)	total	Kontrolle pos.	(%)	total	relatives Risiko
B8	161	10	(35.7)	28	25	(25.0)	100	1.68
	2	74	49.3	150	74	31.8	233	2.08
	3	38	44.7	85	466	23.7	1967	2.61
	4	12	24.0	50	20	20.0	100	1.27
	5	12	20.3	59	44	16.3	270	1.34
	6	21	42.0	50	81	18.0	450	3.30
	7	34	30.4	112	205	20.5	1000	1.70
	8	28	31.1	90	17	11.2	152	3.53
Kombin.:	(p 1.0E-10)			624			4272	2.13
95% Vertr.Intervall:								1.75 2.58
Heterogenität: (p>0.05)								
BW15	161	5	(17.9)	28	7	(7.0)	100	2.92
	2	31	20.7	150	28	12.0	233	1.90
	3	28	32.9	85	352	17.9	1967	2.27
	4	18	36.0	50	10	10.0	100	4.91
	5	9	15.3	59	27	10.0	270	1.67
	6	13	26.0	50	43	9.6	450	3.37
	7	28	25.0	112	150	15.0	1000	1.91
	8	10	11.1	90	20	13.2	152	0.84
Kombin.:	(p<1.0E-10)			624			4272	2.11
95% Vertr.Intervall:								1.69 2.64
Heterogenität: (p>0.05)								
B7	161	8	(28.6)	28	32	(32.0)	100	0.87
	2	8	16.0	50	75	32.2	233	0.42
	3	9	10.6	85	527	26.8	1967	0.34
	4	10	20.0	50	21	21.0	100	0.96
	5	7	11.9	59	42	15.6	270	0.77
	6	6	12.0	50	117	26.0	450	0.41
	7	15	13.4	112	260	26.0	1000	0.45
Kombin.:	(p = 4.1E-06)			434			4120	0.52
95% Vertr.Intervall:								0.40 0.69
Heterogenität: (p>0.05)								
B18	161	9	(32.1)	28	23	(23.0)	100	1.61
	2	4	8.0	50	10	4.3	233	2.06
	3	8	9.4	85	140	7.1	1967	1.43
	4	5	10.0	50	12	12.0	100	0.86
	5	14	23.7	59	33	12.2	270	2.06
	6	6	12.0	50	59	13.1	450	0.96
	8	28	31.1	90	21	13.8	152	2.79
Kombin.:	(p = 3.9E-04)			412			3272	1.72
95% Vertr.Intervall:								1.27 2.33
Heterogenität: (p>0.05)								

Tabelle III juveniler und/oder insulinpflichtiger Diabetes mell. – Kombiniertes Zahlenmaterial aus HLA-Phänotypfrequenzen, gesammelt von der zentralen Registrierstelle für "HLA and Disease" in Copenhagen (164 b)
(in: HLA Studies in Diabetes mell.:a Review
J. Nerup, Adv.Metab.Disord.,9,263-77 (1978))

	Anzahl d.	Patienten		Kontrolle		rel.	Signifikanz rel.	
HLA	Studien	%	Total	%	Total	Risiko	Risiko	Heterogen.
B5	11	0-14	998	9-21	5704	0.59	2.5E-05	>0.05
B7	12	3-29	1110	3-32	6704	0.51	<1E-10	>0.05
B8	13	19-55	1200	2-29	6856	2.42	<1E-10	>0.05
B12	11	5-26	998	11-34	5704	0.80	1.5E-02	4.8E-02
B13	11	0-8	998	3-6	5704	1.18	>0.05	>0.05
B14	10	0-9	850	0-15	5246	0.72	>0.05	>0.05
B18	12	5-59	1088	5-50	5856	1.65	1.3E-06	>0.05
B27	11	2-14	998	4-14	5704	0.98	>0.05	>0.05
Bw15	13	4-50	1200	2-26	6856	1.89	<1E-10	2.2E-02
Bw16	6	6-20	425	4-14	4401	1.42	4.6E-02	>0.05
Bw17	11	0-13	998	2-23	5704	0.78	>0.05	>0.05
Bw21	7	0-14	484	0-13	4671	1.57	1.5E-02	>0.05
Bw22	10	0-6	850	1-6	5246	0.94	>0.05	>0.05
Bw35	11	6-34	998	6-27	5704	0.74	8.6E-03	1.8E-02
Bw37	4	0-3	247	2-4	1920	1.01	>0.05	>0.05
Bw38	1	5-5	50	4-4	270	1.40	>0.05	–
Bw40	11	4-29	998	2-21	5704	1.32	8.8E-03	>0.05
Bw41	1	0-0	102	1-1	500	0.69	>0.05	–

Tabelle IV HLA- Studie bei 52 juvenilen Diabetikern mit 57 diabetischen Geschwistern (164 b)
in: HLA Studies in Diabetes mellitus: a Review
J. Nerup, Adv.Metab.Disord.,9,263-77 (1978)

	Zwei gemeinsame Haplotypen (HLA- identisch)	Ein gemeinsamer Haplotyp	Kein gemeins. Haplotyp
Beobachtet	31,5%	60%	8,5%
Erwartet bei Normalverteilung[1]	25%	50%	25%
Erwartet bei dominanter Empfänglichkeitsvererbung[2]	33%	67%	0%

[1] $\chi^2 = 45.96$; $p < 0.001$ [2] $\chi^2 = 25.08$; $p < 0.001$

4. HLA und Diabetes mellitus

4.1.1. Populationsstudien

1973 stellten S i n g a l und B l a j c h m a n erstmalig bei juvenilen Diabetikern eine unerwartet hohe Frequenz des HLA Antigens BW15 fest (193). 1972 hatten F i n k e l s t e i n et al. noch berichtet, keine Assoziation zwischen HLA und juvenilem Diabetes mellitus gefunden zu haben (72). N e r u p et al. (163) und etwas später, C u d w o r t h und W o o d r o w (56) konnten 1974 eine statistisch signifikante Assoziation des juvenilen Diabetes mellitus mit HLA BW15 und darüber hinaus auch mit B8 durch Untersuchung größerer Gruppen nachweisen. Zwischen 1972 und 1973 wurde mit Unterstützung durch die WHO in Kopenhagen eine zentrale Registrierstelle eingerichtet, die sich ausschließlich mit der Sammlung und statistischen Auswertung von Untersuchungsergebnissen zum Thema "HLA und Erkrankungen" befaßt. In den Tabellen II und III sind die anläßlich des ersten internationalen Symposions "HLA and Disease" 1976 in Paris vorgelegten Daten zum Thema "HLA und Diabetes mellitus" wiedergegeben. Neben HLA B8 und BW15 wurden eine deutlich positive Assoziation mit HLA Dw3 und Dw4 (212, 214) und andererseits eine deutliche Frequenzminderung des Antigens B7 (212, 132, 218) beobachtet.

4.1.2. Familienstudien

Wie bei allen anderen genetischen Untersuchungen über den Diabetes mellitus, so wurde auch bezüglich der HLA Assoziation erhofft, durch Familienstudien aufschlußreiche Informationen zu erhalten. Zunächst zeigten diese Studien erst einmal, daß HLA Antigene auch bei Diabetikern als kodominante autosomale Merkmale vererbt werden. In Figur 2 ist das Vererbungsschema an einer Familie dargestellt. Insge-

samt sind in der Literatur bisher 12 Familien mit zusammen 37 Fällen von Diabetes mellitus über zwei oder mehr Generationen beschrieben worden, deren Mitglieder auf HLA typisiert worden waren (164). Bemerkenswert war dabei, daß ein Diabetes nur bei Familienmitgliedern auftrat, die einen bestimmten HLA-Haplotyp des diabetischen Probanden aufwiesen, also haplotypisch identisch waren. Durch Untersuchungen an HLA-identischen und nichtidentischen Geschwistern mit Doppelfällen von Diabetes mellitus rückte die Assoziation HLA-Diabetes als wichtiger Befund bei der Diskussion um die Ätiologie und Pathogenese immer mehr in den Vordergrund.

Vorausgesetzt, daß zwischen HLA und Diabetes keine Assoziation bestünde, sollten erwartungsgemäß (siehe Figur 2!) 25% der diabetischen Geschwisterpaare HLA-identisch sein, 50% einen gemeinsamen Haplotyp aufweisen und 25% zwei verschiedene elterliche Haplotypen besitzen. Es zeigte sich, daß die Anzahl der HLA-identischen diabetischen Geschwister die Erwartungswerte bei weitem überschritt (siehe Tabelle IV). Aus den beobachteten Daten ließ sich bezüglich der genetischen Wertigkeit der HLA-Diabetes-Assoziation ableiten, daß es sich dabei weder um eine rezessiv, noch um eine dominant vererbte Krankheitsempfänglichkeit handeln konnte. Wenngleich die verfügbaren Daten noch durch Überprüfung größerer Probandenkollektive zu erweitern sind, um eine endgültige Aussage treffen zu können, so ergibt sich doch aus den Familienstudien zwingend die Schlußfolgerung, daß diabetogene Gene innerhalb der HLA Region - vermutlich zwischen B und D Locus - für das Entstehen diabetischer Stoffwechselstörungen eine notwendige Voraussetzung bilden. Andererseits weisen folgende, ebenfalls aus Familienstudien gewonnene Ergebnisse darauf hin, daß allein das Vorhandensein der vermutlich diabetogenen HLA-assoziierten Gene noch nicht genügt, um ein Individuum zum Diabetiker werden zu

lassen:

a) Die Konkordanzrate des juvenilen Diabetes mellitus beträgt bei eineiigen Zwillingspaaren vor dem vierzigsten Lebensjahr nur ungefähr 50% (207, 176);

b) nur etwa 12 bis 15% der Patienten mit juvenilem Diabetes mellitus liefern unter ihren Verwandten ersten Grades eine positive Familienanamnese für diabetische Stoffwechselstörungen (22);

c) das empirische Risiko, an Diabetes zu erkranken, ist auch bei familiär vorbelasteten Menschen erstaunlich niedrig - nur ca. 5% der Kinder mit einem diabetischen Elternteil bekommen bis zum dreißigsten Lebensjahr selbst einen Diabetes (89, 164b)

Sind beide Eltern Diabetiker, so liegt der Prozentsatz diabetischer Kinder zwischen 40 und 50% (164b).

4.1.3. Zielsetzung

Die hier vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur Erforschung von Ätiologie und Pathogenese des Diabetes mellitus leisten. Dazu wurden mögliche Zusammenhänge zwischen Störungen der Glucosetoleranz bzw. Insulinsekretion und dem System der menschlichen Leukozyten-Iso-Antigene HLA an Familien von juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern untersucht. Die durchgeführten Experimente bestanden in der HLA-Typisierung juveniler Diabetiker und ihrer Verwandten ersten Grades, sowie der Bestimmung der oralen Glucosetoleranz und Insulinantwort bei der Gruppe der Blutsverwandten.

Aus den angeführten Ergebnissen der HLA-Diabetes-Untersuchungen ergibt sich, wie auch schon aus den Familienstudien der Vor-HLA-Ära, daß neben genetischen Faktoren auch nichtgenetische, exogene oder endogene Faktoren hinzutreten müssen, um den Diabetes mellitus manifest werden zu lassen.

Tabelle V Altersverteilung und Häufigkeit diabetes-assoziierter HLA-Antigene bei juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern (n= 60)

HLA-Antigen	Lebensalter zum Manifestationszeitpunkt (in Jahren)			
	0-5 (n=15)	6-12 (n=35)	13-20 (n=9)	21-35 (n=1)
B 8	5	12	2	-
BW 15	1	8	3	-
B 8 u. W 15	-	3	1	-

Daher ist es von besonderem Interesse, zu untersuchen, wie stark die genetische Penetranz der HLA-Diabetes-Assoziation ist. Diese läßt sich am besten am Ausprägungsgrad des diabetischen Phänotyps bei haplotypidentischen Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern beurteilen. Phänotypischer Ausdruck des Diabetes mellitus ist dabei die Störung der Glucosetoleranz, die zumeist mit einer Störung der Insulinantwort nach Glucosegabe vergesellschaftet ist. Bei der Beurteilung sind die bei Untersuchung von stoffwechselgesunden Normalkollektiven erhaltenen Durchschnittswerte als Maßstab heranzuziehen.

4.2.1. Material

1. Patienten

Insgesamt wurden 92 juvenile insulinpflichtige Diabetiker HLA-typisiert. Kein Patient hatte zum Zeitpunkt der Manifestation das 35. Lebensjahr überschritten. Tabelle V gibt die Altersverteilung wieder. Bei 60 Patienten wurde eine persönliche bzw. Familienanamnese erhoben (siehe Muster des Anamnesebogens). Bei 38 Patienten (ca. 63%) konnte eine positive familiäre Diabetesanamnese erfragt werden. In zwei Fällen davon war ein Geschwister manifest diabetisch, in vier Fällen ein Elternteil, bei den übrigen betraf die Erkrankung zumeist einen Großelternteil, bzw. andere Blutsverwandte. Die Patienten entstammten vorwiegend der Diabetesambulanz der Kinderpoliklinik der Technischen Universität München, ferner der Diabetesambulanz der Medizinischen Klinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität und der Kinderklinik an der Lachnerstraße, einem Kollektiv, das im Rahmen einer durch die Organon-Chemie geför-

derten Studie aus verschiedenen westdeutschen Kliniken zusammengetragen wurde.

2. Verwandte ersten Grades

Bei 164 Verwandten ersten Grades von 58 juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern wurde eine HLA-Typisierung durchgeführt (55 Familien). 27 Familien (85 Probanden) unterzogen sich später einem oralen Glucosetoleranztest (51 Eltern, 33 Geschwister, 1 Geschwister eines Elternteils). Die Familienangehörigen waren in einer Briefaktion aufgerufen worden, die Patienten zum nächsten Ambulanztermin zu begleiten. Bei dieser Gelegenheit wurde ein Zeitpunkt für die orale Glucosebelastung vereinbart, die in der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität, Ziemssenstraße, durchgeführt wurde. Das Durchschnittsalter der Eltern zum Zeitpunkt des Tests betrug 42,5 Jahre (32 bis 53 J.), das der untersuchten Geschwister 12,9 Jahre (6 bis 21 J.). 15 Probanden wiesen eine Überschreitung ihres Sollgewichtes von mindestens 20% auf. (2 Personen unter 35 Jahre, 13 Personen älter als 35 Jahre).

3. Kontrollgruppen

Als Kontrollgruppe wurde für die HLA-Phänotypfrequenzen ein kombiniertes Kollektiv von insgesamt 5 046 unverwandten, klinisch gesunden, der kaukasischen Rasse angehörigen Personen herangezogen. An der HLA-Typisierung waren fünf verschiedene deutsche Gewebetypisierungslabors beteiligt (Institute: Kinderpoliklinik der Universität München, Institut für Immunologie und Virologie der Universität Essen, Immunserologisches Labor der Städt. Krankenanstalten Mannheim, Hygiene-Institut der Universität Kiel, Institut für Immunhämatologie der Universität Frankfurt). (2)

4.2.2. Methodik

1. HLA-Typisierung

Die Typisierung der Probanden wurde mit dem geringfügig modifizierten Mikrolymphozytotoxizitätstest nach T e r a s a k i und M c C l e l l a n d durchgeführt: Aus ca. 5 bis 10 ml heparinisiertem Vollblut wird durch Zentrifugation mit Ficoll-Isopaque nach B o y u m (25) eine möglichst reine Lymphozytensuspension gewonnen. Nach mehrmaligem Auswaschen in Hankscher Lösung wird der Lymphozytengehalt in einer Zählkammer lichtmikroskopisch überprüft.

Ein Mikroliter der erhaltenen Suspension wird anschließend mit jeweils einem Mikroliter eines Antiserums in kleinen Reaktionsgefäßen einer Plastikplatte (sogen. Terasaki-tray) unter Luftabschluß durch Paraffinöl für 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach werden 5 Mikroliter eines frischen, unverdünnten Kaninchenserums als Komplement zugegeben und wiederum bei Zimmertemperatur 60 Minuten inkubiert.
Schließlich werden die Lymphozyten mit Eosinlösung gefärbt und in Formalin fixiert.
Das Ablesen der Lymphozytotoxizitätsreaktion erfolgt unter einem doppelten Phasenkontrastmikroskop. Die Antigen-Antikörperreaktion an der Lymphozytenoberfläche bindet Komplement und führt dadurch zur Zytolyse, die sich durch eine Vergrößerung der Zelle und durch die Anfärbbarkeit mit Eosin und Trypanblau nachweisen läßt. Fixierung mit Formalin stoppt den Zytolysevorgang und erlaubt damit ein Ablesen der Tests auch noch nach Tagen und Wochen. Beim Ablesen erscheinen die bei Testende noch lebenden Zellen als kleine, helle Kugeln, während die lysierten Zellen als dunkelgefärbte große Flecken im Hintergrund keinen Phasenkontrast ergeben.

Mit dieser Methode, die vom amerikanischen National Institute of Health als Standardmethode anerkannt ist, wurden insgesamt 32 verschiedene HLA-Antigenspezifitäten des A-, B- und C-Locus bestimmt. (HLA A: 1,2,3,9,10,11,28,29,W30/31, W32,W33; HLA B: 5,7,8,12,13,W15,W38/39,W17,18,W21,W22,27, W35,W37,W40; HLA C: CW1,CW2,CW3,CW4,CW5,C blank)

2. Glucosetoleranztest

Die Probanden wurden angewiesen, sich vor der oralen Glucosebelastung drei Tage lang kohlenhydratreich zu ernähren (ca. 300 g KH/die). Der Test fand nach einer 12stündigen Fastenperiode statt. Die Untersuchungen wurden am liegenden Patienten vorgenommen. Zur Blutabnahme wurde ein venöser Zugang geschaffen, der durch eine NaCl-Dauertropfinfusion offengehalten wurde. Testpersonen mit einem Körpergewicht über 50 kg erhielten bei Beginn der Untersuchung 100 g Glucose in Form von "Dextro-OGTT" oral verabreicht. Bei Personen unter 50 kg und unter 10 Jahren wurde die Glucosemenge nach dem Körpergewicht berechnet (1,75 g x kg Körpergewicht). Die Blutabnahmen erfolgten im Nüchternzustand, sowie 30, 60, 120 und 180 Minuten nach Glucosegabe.

Die Blutglucose wurde nach Enteiweißung mit Perchlorsäure mit der Hexokinasemethode gemessen. Die Diagnose einer verminderten Glucosetoleranz ließ sich stellen, wenn von folgenden Kriterien mindestens zwei erfüllt waren:
Blutglucose-Wert bei 0 Min. 100 mg%, bei 60 Min. 160 mg%,
bei 120 Min. 140 mg%, bei 180 Min. 110 mg%.
Zwei Probanden nahmen hormonelle Antikonzeptiva ein. Zum Zeitpunkt der Untersuchung stand keine Testperson unter der Wirkung diabetogener Pharmaka (wie Steroide, Thiazid-Diuretika etc.).

3. Insulinantwort während OGTT

Während der OGTT wurde in den oben angegebenen Zeitabständen venöses Blut zur Bestimmung der Insulinspiegel im Serum abgenommen. Die Messung des immunologisch meßbaren Insulins (IRI) erfolgte mit einem standardisierten Radioimmunassay der Firma Amersham Buchler, Braunschweig.

Die Auswertung der Insulinsekretionskurven ergab eine Zuordnung zu nachfolgenden Sekretionstypen:

a) verzögerte Insulinantwort (delayed responder), wenn das Sekretionsmaximum nach oraler Glucosegabe erst nach 120 Minuten erreicht wurde;

b) erhöhte Insulinantwort (hyperresponder), wenn das Maximum des Seruminsulinspiegels 120 uE/ml überstieg;

c) erniedrigte Insulinantwort (low responder), wenn der Maximal erreichte Seruminsulinspiegel unter 40 uE/ml lag.

d) Kombinationen der Sekretionsmuster a + b, oder a + c.

15 Probanden wiesen nach der Regel von B r o c a eine Abweichung vom Sollgewicht von 20% oder mehr auf. Bekanntlich reagieren adipöse Personen auf einen Glukosereiz häufig mit einer überschießenden Insulinantwort (171).

Tab.: VI

HLA-Antigene bei juvenilen Diabetikern

HLA-Antigen	Phänotypfrequenz Pat. N= 92 absolut	%	Kontr. N= 5046 absolut	%	Genotypfrequenz Pat. (berechnet nach [1] "maximum-likelihood-meth.")	Kontr.
A 1	38	41.3	1418	28.1	0.220	0.152
A 2	57	62.0	2599	51.5	.350	.304
A 3	20	21.7	1524	30.2	.114	.165
A 9	20	21.7	1034	20.5	.103	.108
A10	12	13.0	565	11.2	.065	.058
A11	3	3.3	495	9.8	.016	.050
A28	9	9.8	358	7.1	.049	.036
A29	2	2.2	202	4.7§§§	.011	.024
AW30/31	0		18	3.9§§§		.020
AW32	4	4.3	151	3.5§§§	.023	.018
AW33	3	3.3	32	6.9§§§	.016x	.035
blank-A					.026x	.030
B 5	14	15.2	676	13.4	.076	.069
B 7	13	14.1	1362	27.0	.071	.146
B 8	39	42.4	969	19.2	.220	.101
B12	9	9.8	1140	22.6	.051	.120
B13	4	4.3	313	6.2	.022	.031
B14	5	5.4	252	5.0	.027	.025
BW15	30	32.6	727	14.4§§§	.164	.075
BW38/39	13	14.1	96	10.0§§§	.071	.050
BW17	1	1.1	414	8.2§	.006	.042
B18	9	9.8	366	8.5§§	.054	.043
BW21	7	7.6	185	4.3§§	.033	.022
BW22	2	2.2	172	3.4	.011	.017
B27	2	2.2	409	8.1	.011	.041
BW35	13	14.1	873	17.3	.071	.091
BW37	0					
BW40	14	15.2	631	12.5	.077x	.065
blank-B					.032x	.127

§: N= 4302;

§§: N= 462; Kontrollzahlen aus Phänotypfrequenzergebnissen

§§§: N= 964; verschiedener deutscher Gewebetypisierungs-Labors kombiniert (Kiel, Essen, Frankfurt, Mannheim, München)

x: beobachtete HLA-Haplotypen mit serologisch nicht definiertem Antigen

[1] Genotypfrequenzen für juvenile Diabetiker (N= 92) aus Zählmatrix der HLA-Haplotypen unter Verwendung der "maximum likelihood-" Kalkulation berechnet

5. Ergebnisse

5.1. HLA-Typisierung bei juvenilen Diabetikern

5.1.1. HLA-Phäno- und Genotypfrequenzen

Tabelle VI gibt HLA-Phäno- und Genotypfrequenzen bei 92 untersuchten juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern wieder.
Die Angaben über die Phänotypfrequenzen bei Patienten und Kontrollgruppen leiten sich aus der Auszählung der einzelnen HLA-Antigene ab.
Die Genotypfrequenzen wurden aus den Daten der Zählmatrix der HLA-Haplotypen mit der "Maximum Likelihood"-Methode nach Y a s u d a und K i m u r a errechnet:
Die Vererbungseinheit der HLA-Antigene ist der sogen. Haplotyp (siehe Figur 2). Ebenso wie die Genfrequenzen sind auch die Haplotypfrequenzen am einfachsten durch direkte Auszählung der in Familienanalysen deduzierten Haplotypen zu ermitteln. Leider ist eine eindeutige Ableitung des Haplotypen nicht immer möglich, so daß bei einer einfachen Zählung die Ergebnisse möglicherweise stark verfälscht würden. Ergibt sich z.B. aus der Segregation der Antigene 2 - 7 bei den Kindern für einen Vater mit dem Phänotypen 2,7,8, der Haplotyp 2 - 7, so läßt sich über den zweiten väterlichen Haplotypen noch keine definitive Aussage treffen; es bleibt offen, ob der zweite Haplotyp 2 - 8 trägt, oder ob ein bislang serologisch nicht definiertes Antigen des A-Locus vorliegt (X - 8). Daher wird aus bereits vorliegenden empirischen Werten die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen des Haplotypen 2 - 8 oder X - 8 wie folgt berechnet: Da nur die beiden Möglichkeiten (2 - 8, X - 8) bestehen, ist die Summe der beiden Wahrscheinlichkeiten (p = Wahrscheinlichkeit), $p_{2-8} + p_{X-8} = 1$.
Die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen des einen oder

Tab.: VII Zählmatrix der Haplotypen bei 92 juvenilen Diabetikern

							A28	A29	AW 30/31	AW32	AW33	blank	Total
B 5	0.78	4.63	3.00	3.00			1.00	1.00				0.59	14.00
B 7	0.03	6.17	4.00	1.97			0.28					0.55	13.00
B 8	29.06	5.18		1.28	3.00		0.02			1.00	1.00		40.54
B12	1.00	3.92	0.42	1.52			1.00			0.59		0.87	9.32
B13		1.00		2.00	1.00								4.00
B14	1.19	2.22	1.00									0.59	5.00
BW15	1.52	12.43	7.50	3.53	1.23	1.33	1.47				1.00	0.14	30.15
BW38/39	2.20	6.30		1.47			0.92	1.00			0.61	0.50	13.00
BW17		0.93										0.07	1.00
B18	1.01	1.27	1.00		4.00		1.33			1.00	0.39		10.00
BW21	0.04	4.81	1.00									0.15	7.00
BW22		0.83	0.17				1.00						2.00
B27	0.03	1.97											2.00
BW35	0.36	5.55	2.83	2.00	1.00							1.26	13.00
BW40	3.28	6.47		0.48	0.25	1.07	0.98			1.00			14.13
blank	0.05	0.78	0.08	0.75	1.92		1.00			0.58		0.10	5.86
total	41.55	64.45	21.00	18.48	12.00	2.40	6.00	1.00	0.00	3.17	2.00		

Tab.: VIII Genfrequenzen bei 92 juvenilen Diabetikern

	A 1	A 2	A 3	A 9	A10	A11	A28	A29	AW30/31	AW 32	A..33	blank	Total
B 6	0.0042	0.0252	0.0163	.0163			.0054	.0054				.0032	.0760
B 7	.0002	.0335	.0217	.0107			.0015					.0030	.0706
B 8	.1573	.0282		.0070	.0163		.0001			.0054	.0054		.2203
B12	.0054	.0213	.0023	.0083			.0054			.0032		.0047	.0506
B13	.	.0054	.	.0109	.0054								.0217
B14	.0065	.0121	.0054									.0032	.0272
B#15	.0083	.0676	.0408	.0192	.0067	.0072	.0080				.0054	.0008	.1640
B#38/39	.0120	.0342		.0080			.0050	.0054			.0033	.0027	.0706
B#17		.0051										.0004	.0055
B#18	.0055	.0069	.0054		.0217		.0072			.0054	.0021		.0542
B#21	.0002	.0261	.0054									.0008	.0325
B#22	.	.0045	.0009				.0054						.0108
B27	.0002	.0107											.0109
B#35	.0020	.0302	.0154	.0109	.0054							.0068	.0707
B#40	.0178	.0352		.0026	.0014	.0091	.0053			.0054			.0766
blank	.0003	.0042	.0004	.0095	.0083		.0054			.0032		.0005	.0318
Total	2205	3504	1140										

anderen Haplotypen wird daher von den Haplotypfrequenzen beider in Frage kommender Haplotypen bestimmt. Die Wahrscheinlichkeit ist für das Vorliegen des Haplotypen 2 - 8 gleich $p_{2-8} = \frac{h_{2-8}}{h_{2-8} + h_{X-8}}$, wobei p die Wahrscheinlichkeit und h die Haplotypfrequenz repräsentiert. Wäre z.B. die Frequenz $h_{2-8} = 0.02$ und $h_{X-8} = 0.01$, dann errechnet sich $p_{2-8} = \frac{0.02}{0.02+0.01} = 0.67$.

Daraus folgt $p_{X-8} = 1 - 0.67 = 0.33$. Kommen mehr als zwei verschiedene Haplotypen in Frage, so müssen die entsprechenden Frequenzen im Nenner addiert werden, z.B. $p_{2-8} = \frac{h_{2-8}}{h_{2-8} + h_{X-8} + h_{X-Y}}$. Die so errechneten Wahrscheinlichkeitswerte werden schließlich zu den ausgezählten Haplotypfrequenzen addiert.

Insgesamt konnten bei 53 Patienten die Haplotypen durch Segregationsanalysen abgeleitet werden. Bei 39 Patienten konnte entweder keine ausreichende Zahl von Familienangehörigen HLA-typisiert werden, oder der Phänotyp ließ eine eindeutige Ableitung des entsprechenden Genotyps nicht zu (siehe obiges Beispiel). In Tabelle VII sind die Ergebnisse der Haplotypauszählung bei 53 Patienten wiedergegeben, die durch die "Maximum Likelihood"-Berechnung in 39 Fällen ergänzt wurden. In Tabelle VIII wurde eine Berechnung der Haplotypfrequenzen als Fraktion von 1 durchgeführt. Durch die Berechnung auf vier Stellen nach dem Komma ergab sich ein geringfügiger Fehler von 0.0058, der vernachlässigt werden kann.

Die in Tabelle VI angegebenen Genotypfrequenzen der einzelnen HLA-Spezifitäten - der C-Locus wurde dabei nicht berücksichtigt - stammen aus den in Tabelle VIII errechneten Zahlen. Diese Verfahrensweise ist anfechtbar, da bei der Anwendung der "Maximum Likelihood"-Methode eigentlich ein wesent-

Tab.: IX

a) Formeln zur Berechnung der Signifikanz von HLA-Phänotypfrequenzunterschieden zwischen juvenilen Diabetikern und Kontrollgruppen:
2x2 -Tabelle

Zahl der Individuen

	mit Antigen X	ohne Antigen X	Total
Patienten	a	b	a + b
Kontrolle	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n = a + b + c + d

Berechnung des Chi-Quadrates nach Yates (X^2)

$$X^2 = \frac{\left((a \times d) - (b \times c) - n/2 \right)^2 \times n}{(a + b) \times (a + c) \times (c + d) \times (b + d)}$$

b) Berechnung des Assoziationsgrades zwischen HLA-Antigenen und Diabetes mellitus:
relatives Risiko nach Haldane (rR)

$$rR = \frac{(2a + 1) \times (2d + 1)}{(2b + 1) \times (2c + 1)}$$

Tab.: X

Signifikanz der Assoziation juv.Diabetes mell.- HLA-Antigene:

HLA-Antigen	Chi-Quadrat (Yates)	rel. Risiko (Haldane)	p-Wert (Geigy-Tab.)	p-Wert korrig. (Bodmer)	Signifikanz
A 1	(+)6.47	1.74	0.007	0.189	nicht sign.
A 2	(+)3.54	1.53			" "
A 3	(-)3.49	0.65			" "
A11	(-)5.21	0.36	0.02	0.540	" "
B 7	(-)8.30	0.46	0.004	0.108	nicht sign.
B 8	(+)29.35	3.11	8×10^{-9}	2.16×10^{-7}	signifikant
B12	(-)9.29	0.39	0.0025	0.067	nicht sign.
BW15	(+)22.40	2.90	2×10^{-6}	5.4×10^{-5}	signifikant
BW17	(-)7.16	0.18	0.007	0.189	nicht sign.
B27	(-)5.16	0.31	0.02	0.540	" "

lich größeres Untersuchungskollektiv erforderlich wäre (ca. 500 Pers.). Trotzdem entschieden wir uns für diese Methode, weil wir glaubten, damit unter den gegebenen Umständen die beste Anpassung an die tatsächlichen Verhältnisse zu erreichen.
Beim Vergleich der bei juvenilen Diabetikern gezählten HLA-Phänotypfrequenzen (= Antigenfrequenzen) mit einer kombinierten Kontrollgruppe (Tab. VI) fällt auf, daß die Frequenz der Antigene HLA-A1, A2, B8 und BW15 bei den Patienten deutlich über dem Durchschnitt der Gesamtpopulation zu liegen scheint. Im Gegensatz dazu sind die Prozentzahlen für die Antigene A3, A11, B7, B12, BW17, B27 und blank-B bei den Diabetikern, verglichen mit der Kontrollgruppe, auffallend niedrig. Bei den übrigen Antigenspezifitäten konnten keine wesentlichen Frequenzunterschiede festgestellt werden. Die gleichen Beobachtungen wiederholten sich beim Vergleich der einzelnen aus den Haplotypfrequenzen abgeleiteten Genotypfrequenzen.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich folgende Fragen ableiten:

1. Besteht ein signifikanter Unterschied bei den oben angeführten Antigenfrequenzen zwischen juvenilen Diabetikern und der Kontrollgruppe?(siehe Diskussion Teil 6.1.1.)
2. Wie stark ist der Assoziationsgrad zwischen den betreffenden Antigenen und dem juvenilen Diabetes mellitus? (siehe Diskussion Teil 6.1.2.)
3. Bezieht sich die Assoziation auf bestimmte Haplotypen, z.B. A1-B8, oder ist lediglich ein HLA-Antigen, z.B. B8 diabetes-assoziiert, und das zweite aufgrund eines Kopplungsungleichgewichtes an die Häufigkeit des Diabetes-assoziierten Antigens gekoppelt? (siehe Diskussion Teil 6.1.3.)

In Tabelle IX sind die zur Beantwortung dieser Fragen angewandten statistischen Methoden aufgeführt. Zur Überprü-

fung der statistischen Signifikanz wurden die Ergebnisse einem nach Y a t e s modifizierten Fisher-Test unterzogen (73). Mit diesem Verfahren lassen sich zufällig aufgetretene Antigenfrequenzunterschiede zwischen Patienten und Kontrollen von statistisch signifikanten Frequenzunterschieden weitgehend abgrenzen. Dazu wurden die entsprechenden Phänotyp-Absolutzahlen von Patienten und Kontrollen in eine 2x2-Tabelle eingebracht und daraus das sogen. Chi-Quadrat (X^2) berechnet, z.B. für HLA B8:

$$X^2_{B8} = \frac{(\ (39x4077) - (53x969) - 5138/2\ )^2 \ x\ 5138}{(39+53)\ x\ (39+969)\ x\ (969+4077)\ x\ (53+4077)} = (+)\ 29.35$$

Durch die Korrektur nach Y a t e s wird die Anzahl der untersuchten Individuen (n) besser berücksichtigt. Auf diese Weise läßt sich vornehmlich bei relativ kleinen Untersuchungskollektiven die meist deutlich ausgeprägte Diskontinuität des Probandenmaterials korrigieren.
Die negativen oder positiven Vorzeichen vor den errechneten X^2-Werten geben jeweils an, ob es sich um eine Frequenzminderung oder -erhöhung handelt.
Für die einzelnen X^2-Werte wurden die dem 95%-Vertrauensintervall entsprechenden Wahrscheinlichkeitswerte (p) festgestellt (236). Bei einem signifikanten Frequenzunterschied mußte der p-Wert kleiner als 0.005 sein. Dies traf nur für die Antigene B8 und BW15 zu ($p_{B8} = 8x10^{-9}$; $p_{BW15} = 2x10^{-6}$).
Da HLA-Antigene desselben Locus (A oder B) bezüglich der Frequenz untereinander eng zusammenhängen, ist es denkbar, daß durch die Frequenzerhöhung eines Antigens falsch-signifikante Frequenzminderungen eines oder mehrerer Antigene des gleichen Locus verursacht werden und umgekehrt. Dieses Phänomen beruht auf der negativen Assoziation zwischen Allelen desselben HLA Locus innerhalb einer Population. Darüber hinaus besteht ein sogen. Kopplungsungleichgewicht zwischen Antigenen der verschiedenen Loci, so daß ein Frequenzanstieg z.B. von B17 auch eine Erhöhung der Frequenz

von A1 herbeiführt. Diese Fehlermöglichkeiten lassen sich nach B o d m e r (201b) weitgehend ausschalten, sofern die erhaltenen p-Werte mit der Gesamtzahl der getesteten Antigene beider Loci multipliziert werden. Auch nach entsprechender Korrektur mit dem Faktor 27 (A- und B-Locus) erwiesen sich die Frequenzunterschiede bei B8 und BW15 als hochsignifikant ($p_{B8}= 2.6x10^{-7}$; $p_{BW15}= 5.4x10^{-5}$). Der Grad der Assoziation zwischen HLA-Antigenen und einer bestimmten Erkrankung wird am einfachsten durch das sogen. relative (Erkrankungs-)Risiko (rR) beschrieben. Letzteres gibt an, wievielmal häufiger eine Erkrankung bei Trägern eines bestimmten Antigens auftritt als bei Personen ohne dieses Antigen. Die Berechnung erfolgte mit der von H a l d a n e für kleine Kollektivgrößen modifizierten Formel nach W o o l f (92, 228), die in Tabelle IX dargestellt ist. Berechnungsgrundlage bildeten die für die X^2-Berechnung verwendeten Daten. Für die Träger der HLA-Antigene B8 und BW15 errechnete sich ein relatives Risiko rR_{B8} = 3.11 und rR_{BW15} = 2.90, an Diabetes mellitus zu erkranken.

5.1.2. HLA-Haplotypfrequenzen

Die Analyse verschiedener Haplotypfrequenzen zeigte, daß manche Haplotypformationen in einer Population weitaus häufiger vorgefunden wurden, als aufgrund der Genfrequenzen der beteiligten Antigene zu erwarten gewesen wäre. C e p p e l l i n i hat dieses Phänomen, das Kopplungsungleichgewicht genannt wird, 1967 bei genetischen Markern von Immunglobulinen erstmalig beschrieben (37). Inzwischen wurde auch bei anderen eng benachbarten Histokompatibilitätssystemen ein Kopplungsungleichgewicht gefunden, so z.B. im Rh-, HLA-, und HLA-MLC-System. Die Ursachen dieses

Tab.: XI

HLA-Haplotypen, Kopplungsungleichgewicht und Signifikanz des Kopplungsungleichgewichtes bei juvenilen Diabetikern

Haplotyp	Frequenz beobachtet[a]	erwartet[b]	Deltawert = Δ	X^2 [c]	p
1-8	0.158 (29)	0.049 (8)	+0.109 (21)	55.13	signifik. ($p < 0.005$)
1-W17	0.0001	0.001 (<4)	-0.001	-	-
1-W40	0.018	0.017 (<4)	+0.001	-	-
2-8	0.028 (5)	0.077 (12)	-0.049 (7)	4.08	nicht s.
2-12	0.021	0.018 (<4)	+0.004	-	-
2-W15	0.068 (12)	0.057 (9)	+0.010 (3)	1.00	nicht s.
2-W38/39	0.034 (6)	0.025 (4)	+0.009 (2)	1.00	nicht s.
3-7	0.022	0.008 (<4)	+0.014	-	-
3-W15	0.041	0.019 (<4)	+0.022	-	-
3-W35	0.015	0.008 (<4)	+0.007	-	-
9-8	0.007 (1)	0.024 (4)	-0.017 (3)	2.25	nicht s.
9-W15	0.019	0.018 (<4)	+0.001	-	-
10-8	0.016	0.014 (<4)	+0.002	-	-
10-18	0.022	0.004 (<4)	+0.018	-	-

a) Werte siehe Zählmatrix der Haplotypen (Tab. VII)

b) Produkt der Genotypfrequenzen aus Tab.VI

c) X^2 nur bei Erwartungswerten über 4 berechnet unter Verwendung der Absolutzahlen in Klammern

Phänomens sind noch nicht ausreichend geklärt. Wahrscheinlich spielen verschiedene genetische Faktoren zusammen. Neben anderem wird vermutet, daß, unabhängig von der Höhe der einzelnen Genfrequenzen, durch zufällig zustandegekommene Rekombinationen von Antigenen zweier verschiedener HLA-Loci, die möglicherweise im Laufe mehrerer Generationen durch einen Selek tionsvorteil in einer Population weiterverbreitet werden, Frequenzerhöhungen hervorgerufen werden.

Das Kopplungsungleichgewicht wird durch den sogen. Deltawert ausgedrückt. Dazu wird die Differenz zwischen beobachteten und erwarteten Haplotypfrequenzen gebildet. Delta wird entweder als Fraktion von 1, oder in Absolutzahlen angegeben. Der jeweilige Erwartungswert eines Haplotypen errechnet sich aus dem Produkt der einzelnen Genfrequenzen der beteiligten Antigene. Daraus folgt die Gleichung:

$$\text{Delta}_{A-B} = hf_{A-B\ \text{Beobach.}} - g_A \times g_B = hf_{A-B\ \text{Beobach.}} - hf_{A-B\ \text{Erwart.}}$$

Deltawerte über 1 bezeichnen ein positives Kopplungsungleichgewicht, während bei unerwartet niedrigen Haplotypfrequenzen negative Werte resultieren. Die Signifikanz der Heterogenität kann mit einem einfachen Chi-Quadrattest nachgewiesen werden: $X^2 = \frac{(hf\ beob.-hf\ erwar.)^2}{hf\ erwart.}$

In Tabelle XI sind Haplotypfrequenzen und Deltawerte bei juvenilen Diabetikern dargestellt. Die beobachteten Frequenzen stammen aus der Zählmatrix der Haplotypen (Tab. VII) und sind sowohl als Relativwerte wie auch in Absolutzahlen angegeben. Die Erwartungswerte errechneten sich aus den Genfrequenzen in Tabelle VI. Bei der Bewertung der resultierenden Deltawerte wurde die relativ geringe Größe des Untersuchungskollektivs berücksichtigt, um falsch signifikante Ergebnisse zu vermeiden. Deshalb wurden Deltawerte nur dann in den Wahrscheinlichkeitstest einbezogen, wenn die erwartete Häu-

figkeit des betreffenden Haplotypes wenigstens vier betrug.

Bei der Auswertung ergab sich ein signifikant positives Delta für den Haplotyp A1-B8. Die übrigen Ergebnisse konnten wegen zu kleiner Zahlen nicht weiter überprüft werden.

5.1.3. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Bei der Überprüfung der beschriebenen Assoziation des HLA-Systems mit dem juvenilen Diabetes wurde auch das sogen. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht untersucht, um Fehlerquellen, die durch zufällig erfaßte HLA-genetische Trends in der untersuchten Patientengruppe entstehen konnten, möglichst weitgehend auszuschalten.

Nachdem es sich ausschließlich um nichtverwandte Testpersonen handelte, mußte sich - eine zufallsbedingte Ehepartnerwahl der Eltern vorausgesetzt - für Allele eines HLA-Locus ein Gleichgewicht bei Heterozygoten und Homozygoten einstellen, das in etwa den Verhältnissen bei der Gesamtpopulation entsprach. Dabei ist die Anzahl der Heterozygoten z.B. H a/b = g_a x g_b x 2 x N, wobei g_a und g_b die Genfrequenzen der beiden Allele (HLA-Antigene desselben Genlocus) sind und N der Probengröße entspricht. Die Anzahl der Homozygoten ist H a/a = g_a^2 x N. Wie bei der Bestimmung von Genfrequenzen einzelner HLA-Antigene, stellt sich auch hier das Problem unklar definierter Genotype bei Individuen, deren Phänotyp nur ein Antigen aus einer Serie aufweist (z.B. HLA-A1, B8, B12). In diesem Fall ist es nicht möglich, auf Anhieb zu entscheiden, ob es sich um eine heterozygote Person mit dem Genotyp 1-8/X-12 oder ein homozygotes Individuum mit 1-8/1-12 handelt. Die Klärung läßt sich durch die Berechnung des Erwartungswertes der Anzahl solcher Individuen erreichen, der gleich der Summe der Erwartungswerte für homo-

tab.: XII

Anpassungstest nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

1. Allele des A-Locus

Art der Heterozygoten	beobachtete Zahl	erwartete Zahl	Chi-Quadrat
1 / 2	21	14.21	3.24
1 / 3	4	4.63	0.09
1 / 9	4	4.41	0.04
1 /10	2	2.64	
1 /11	0	0.66	0.31
1 /28	2	1.98	
1 /29	0	0.44	
1 /W30/31	0	0.	
1 /W32	1	0.92	0.32
1 /W33	1	0.66	
1 /blank	4	5.53	
2 / 3	9	7.36	0.37
2 / 9	6	7.01	0.15
2 /10	5	4.20	0.15
2 /11	2	1.05	0.77
2 /28	4	3.15	
2 /29	1	0.70	
2 /W32	0	1.46	1.66
2 /W33	0	1.05	
2 /blank	10	12.98	
3 / 9	4	2.28	
3 /10	1	1.37	0.19
3 /11	1	0.34	
3 /28	0	1.03	
3 /29	0	0.23	
3 /W32	0	0.48	
3 /W33	0	0.34	0.30
3 /blank	1	1.75	
9 /10	2	1.30	
9 /11	0	0.33	
9 /28	1	0.98	
9 /29	0	0.45	
9 /W32	1	0.22	0.30
9 /W33	1	0.33	
9 /blank	0	1.61	
10/11	0	0.20	
10/28	0	0.59	
10/29	1	0.13	
10/W32	1	0.27	
10/W33	0	0.20	
10/blank	0	0.73	
11 /28	0	0.15	
11 /29	0	0.03	
11 /W32	0	0.07	
11 /W33	0	0.05	
11 /blank	0	0.10	

Art der Heterozygoten	beobachtete Zahl	erwartete Zahl	Chi-Quadrat
28 /29	0	0.10	0.01
28 /W32	0	0.20	
28 /W33	1	0.15	
28 /blank	0	0.46	
29 /W32	0	0.05	
29 /W33	0	0.03	
29 /blank	0	0.06	
W32/W33	0	0.07	
W32/blank	1	0.16	
W33/blank	0	0.10	
blank/blank	0	0.15	
Gesamt:	92	92.13	7.90
Freiheitsgrade:	2		

2. Allele des B-Locus

5 / 7	3	0.99	0.001
5 / 8	1	3.08	
5 /12	1	0.71	
5 /13	0	0.30	0.02
5 /14	1	0.38	
5 /W15	3	2.29	
5 /W38/39	0	0.99	
5 /W17	0	0.08	
5 /W18	1	0.76	
5 /W21	2	0.53	0.02
5 /W22	0	0.15	
5 /27	0	0.15	
5 /W35	1	0.99	
5 /W40	1	1.08	
5 /blank	0	0.98	
7 / 8	3	2.86	
7 /12	0	0.66	
7 /13	0	0.28	0.01
7 /14	0	0.35	
7 /W15	3	2.13	
7 /W38/39	1	0.92	
7 /W17	0	0.07	
7 /W18	1	0.71	
7 /W21	1	0.49	0.03
7 /W22	0	0.14	
7 /27	0	0.14	
7 /W35	1	0.92	
7 /W40	0	1.00	
7 /blank	0	0.87	
8 /12	1	2.05	0.74
8 /13	1	0.88	
8 /14	1	1.10	

Art der Heterozygoten	beobachtete Zahl	erwartete Zahl	Chi-Quadrat
8 /W15	9	6.64	0.84
8 /W38/39	3	2.86	
8 /W17	0	0.22	0.56
8 /W18	4	2.20	
8 /W21	1	1.54	
8 /W22	1	0.44	1.40
8 /27	1	0.44	
8 /W35	5	2.86	
8 /W40	4	3.11	0.09
8 /blank	4	5.76	
12/13	0	0.20	
12/14	0	0.25	
12/W15	1	1.53	
12/W38/39	2	0.66	0.04
12/W17	0	0.05	
12/W18	0	0.51	
12/W21	0	0.35	
12/W22	0	0.10	
12/27	1	0.10	
12/W35	0	0.66	
12/W40	2	0.72	
12/blank	1	0.53	
13/14	0	0.11	
13/W15	1	0.66	
13/W38/39	0	0.28	0.63
13/W17	0	0.02	
13/W18	0	0.22	
13/W21	0	0.15	
13/W22	0	0.04	
13/27	0	0.04	
13/W35	2	0.28	
13/W40	0	0.31	
13/blank	0	0.17	
14/W15	0	0.82	
14/W38/39	0	0.35	
14/W17	0	0.03	
14/W18	0	0.27	
14/W21	0	0.19	
14/W22	0	0.05	
14/27	0	0.05	1.88
14/W35	1	0.35	
14/W40	1	0.38	
14/blank	1	0.23	
W15/W38/39	4	2.13	
W15/W17	0	0.16	
W15/W18	3	1.64	
W15/W21	1	1.15	
W15/W22	0	0.33	0.03
W15/27	0	0.33	
W15/W35	2	2.13	
W15/W40	2	2.32	1.32
W15/blank	1	3.43	

Art der Heterozygoten	beobachtete Zahl	erwartete Zahl	Chi-Quadrat
W38/39/W17	1	0.07	
W38/39/W18	1	0.71	
W38/39/W21	0	0.49	0.41
W38/39/W22	0	0.14	
W38/39/27	0	0.14	
W38/39/W35	0	0.92	
W38/39/W40	1	1.07	
W38/39/blank	0	0.87	
W17/W18	0	0.05	
W17/W21	0	0.04	
W17/W22	0	0.01	
W17/27	0	0.01	
W17/W35	0	0.07	
W17/W40	0	0.08	
W17/blank	0	0.03	1.11
W18/W21	0	0.38	
W18/W22	0	0.11	
W18/27	0	0.11	
W18/W35	0	0.71	
W18/W40	0	0.77	
W18/blank	0	0.59	
W21/W22	0	0.08	
W21/27	0	0.08	
W21/W35	0	0.49	
W21/W40	2	0.54	
W21/blank	0	0.36	
W22/27	0	0.02	
W22/W35	1	0.14	
W22/W40	0	0.15	
W22/blank	0	0.07	
27/W35	0	0.14	1.08
27/W40	0	0.15	
27/blank	0	0.07	
W35/W40	0	1.00	
W35/blank	0	0.87	
W40/blank	1	0.99	
blank/blank	0	0.15	
Gesamt:	92	91.98	10.21

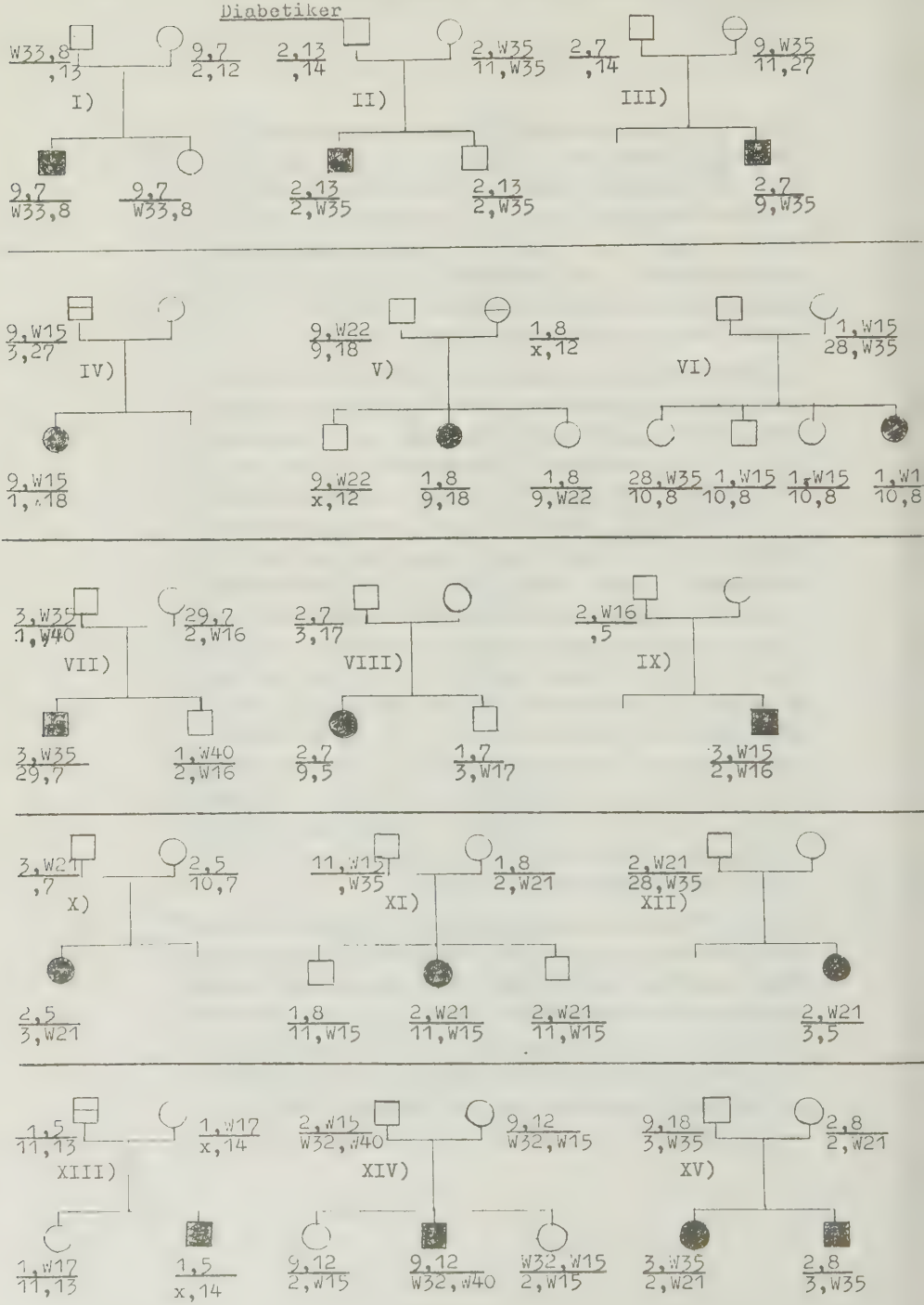
Freiheitsgrade: 2

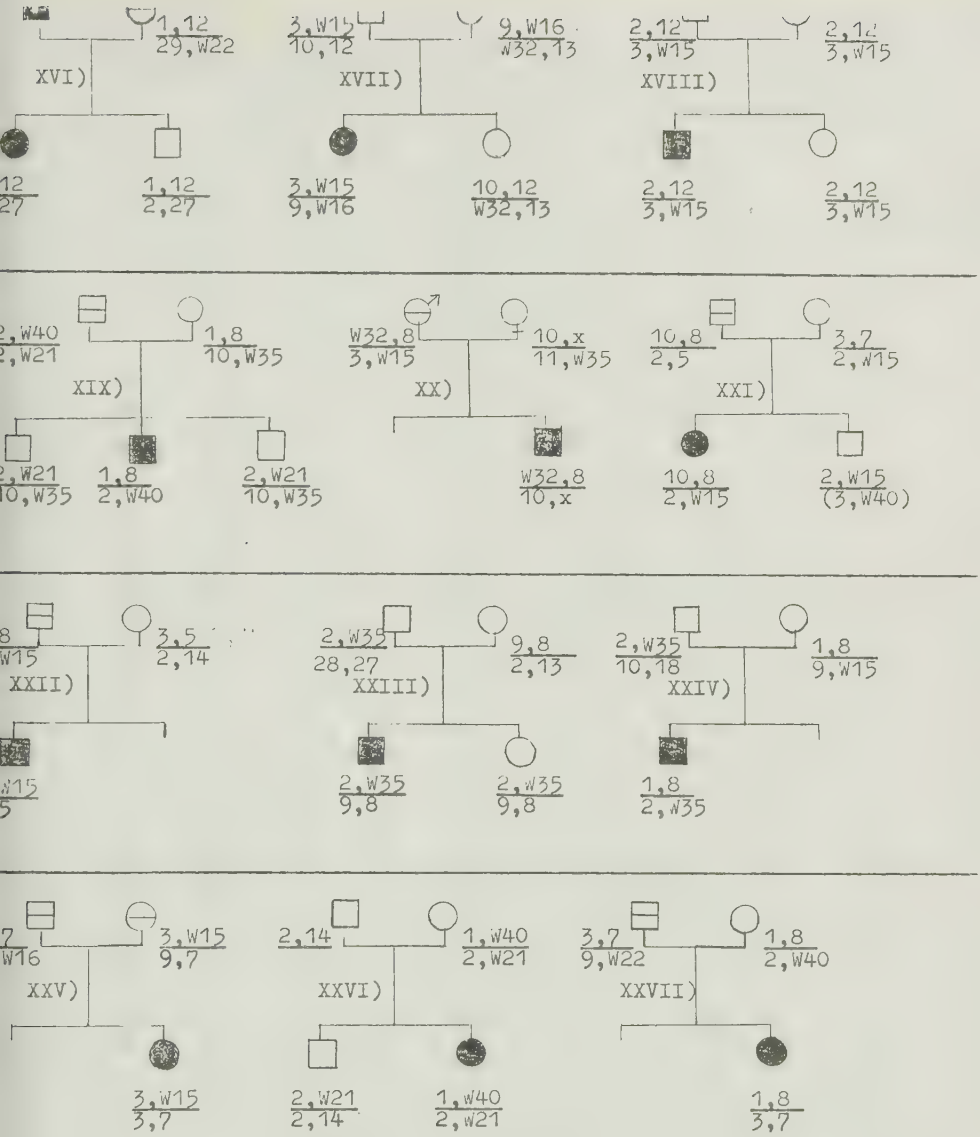
zygote und für heterozygote mit bisher unbekanntem Antigen ist. Daher gilt: E (a-blank) = $g_a^2 \times N + g_a \times g_x \times 2 \times N$. E (a-blank) entspricht der erwarteten Anzahl von Individuen, die neben a kein weiteres Allel des Locus aufweist, dem a angehört. g_a ist die Genfrequenz des Antigens a, g_x die Genfrequenz aller bisher noch unbekannten Allele des entsprechenden Locus (hier der A-Locus) und N die Anzahl aller Testpersonen.

Im Hardy-Weinberg-Test werden für jeden einzelnen HLA-Locus (der sich aus einer Anzahl von Allelen zusammensetzt) Erwartungswerte für Heterozygote und Homozygote mittels eines einfachen Chi-Quadrattests mit den tatsächlich beobachteten Werten verglichen. Die Formel lautet: $X^2 = \frac{(\text{beobachtet} - \text{erwartet})^2}{\text{erwartet.}}$. Für jeden Einzelvergleich steht ein Freiheitsgrad zur Verfügung. Als Maß der Übereinstimmung zwischen Beobachtungs- und Erwartungswerten werden die einzelnen Chi-Quadratwerte für die Allele eines Locus addiert. Die Anzahl der Freiheitsgrade v errechnet sich dann aus der Anzahl der Einzelvergleiche n und der Berechnung der Erwartungswerte verwendeter Genfrequenzen k. Daher lautet die Formel: $v = n - 1 - k$. Für den Gesamt-Chi-Quadratwert bei v-Freiheitsgraden ist aus der Chi-Quadratverteilung in Tabellen (236) ein p-Wert zu bestimmen. Anhand des p-Wertes kann das Maß der Anpassung an die zugrundegelegte Hypothese beurteilt werden. Diese wird bei p-Werten von 0.1 oder höher bestätigt.

Tabelle XII gibt die Ergebnisse des Anpassungstests nach Hardy-Weinberg bei juvenilen Diabetikern wieder. Für die Einzelvergleiche wurden wegen der teilweise sehr niedrigen Erwartungswerte immer mehrere Allele in Gruppen zusammengefaßt, bis wenigstens die Zahl 4 erreicht wurde. Die für die Berechnung der Erwartungswerte verwendeten Genfrequenzen der einzelnen Allele sind der Zählmatrix (Tab. VII) entnommen.

Tab.: XIII Stammbäume mit HLA-Haplotypen von Familien juveniler Diabetiker





Erklärung der Haplotyp-Schreibweise:
z.B. 10,13 bedeutet HLA A10 - B13

: familiäre Prädisposition

: manifester juv.Diabetes mell.

Tab.: XIV

OGTT und Insulinsekretion bei Eltern und Geschwistern juveniler insulinpflichtiger Diabetiker nach Gabe von 100g Glucose

Familie Nr.	Test-pers.	Blutglucose (mg/100ml)					Seruminsulin (uE/ml)				
		0Min.	30	60	120	180	0	30	60	120	180
1	V	103	145	110	94	65	18	116	85	79	28
	M	78	73	81	82	52	16	68	118	101	28
	G1	82	74	82	88	88	23	131	154	121	83
	G2	85	108	97	92	86	20	99	80	89	61
2	V	129	180	234	273	244	19	27	48	81	59
	M	106	180	201	138	118	32	129	200	102	73
	G1	93	146	156	109	122	15	91	98	68	40
	G2	92	156	114	91	94	12	128	95	71	33
3	V	106	118	137	98	93	22	49	173	97	131
	M	101	175	246	166	98	16	19	39	42	20
	G1	127	196	179	146	135	14	28	76	104	35
	G2	117	150	103	88	101	16	54	42	40	40
4	V	107	154	121	130	109	10	42	38	36	27
	M	90	111	89	87	90	11	44	12	15	19
	G1	105	122	114	92	98	14	53	80	64	45
	G2	94	128	108	103	113	15	52	54	35	3[illegible]
5	V	109	169	120	113	115	8	36	20	20	2[illegible]
	M	92	143	189	154	98	14	42	68	74	15
	G1	122	164	204	186	145	11	79	139	128	113
	G2	111	150	168	154	133	23	157	242	258	178
6	V	91	125	116	92	89	1	35	51	25	6
	M	101	140	107	106	103	11	191	132	101	120
7	V	100	191	152	120	144	30	66	69	55	22
	M	105	156	180	148	121	19	86	91	130	81
	G1	96	-	126	-	106	3	-	168	-	50
8	V	105	107	133	106	94	7	46	89	71	18
	M	100	127	157	148	120	9	43	88	51	30
9	V	99	165	136	126	95	17	92	116	102	41
	M	91	123	109	142	98	15	89	91	87	27
	G1	104	144	169	123	2	18	162	100	120	1[illegible]
10	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	M	93	131	99	92	5[illegible]	28	183	117	109	4

		0	30	60	120	180	0	30	60	120	180
11	V	135	140	116	92	85	9	90	141	85	16
	M	114	131	128	101	103	6	58	131	102	79
	G1	86	106	113	96	100	8	80	94	125	60
12	V	95	102	79	93	67	8	86	37	34	13
	M	122	172	199	135	-	9	27	38	81	60
	G1	125	121	(91)	168	147	9	21	17	22	18
	G2	103	118	104	105	81	13	149	93	74	22
13	V	82	109	163	143	118	10	25	97	112	118
	M	85	159	174	120	108	11	60	55	62	38
	G1	83	135	94	107	79	15	93	82	48	22
	G2	82	125	102	92	79	16	105	77	71	27
	G3	77	127	91	90	66	14	103	43	40	12
14	V	116	158	239	205	160	17	95	143	163	169
	M	101	133	79	86	73	11	60	70	50	29
	G1	94	124	100	105	73	9	100	96	79	15
15	V	128	157	167	139	125	13	166	122	123	u.10
	M	91	136	130	101	105	u.1	70	109	63	45
	G1	103	173	115	118	108	2	335	91	75	77
16	V	85	139	104	117	103	15	83	44	48	33
	M	101	111	99	90	89	24	104	133	111	28
	G/M	98	125	116	98	59	19	127	188	77	18
17	V	112	173	177	120	73	5	36	63	58	14
	M	103	141	147	119	120	14	44	49	40	42
	G1	110	143	120	118	115	16	90	65	83	79
18	V	103	178	211	150	123	15	51	95	98	59
	M	91	142	167	120	100	16	53	107	66	53
	G1	101	181	170	143	112	20	48	54	69	38
19	V	124	202	217	147	131	24	103	122	95	96
	M	107	173	273	212	179	22	35	115	127	156
	G1	88	166	163	111	101	13	130	171	101	68
	G2	96	141	119	112	73	16	115	89	101	23
	G3	99	146	130	109	96	21	128	139	81	51
20	V	89	209	170	113	47	16	133	142	97	16
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	G1	94	161	115	105	64	11	76	113	76	25

		0	30	60	120	180	0	30	60	120	180
21	V	100	117	89	78	87	12	83	125	82	36
	M	85	174	204	97	76	12	59	67	36	23
	G1	79	157	138	113	104	11	50	55	48	-
22	V	78	147	100	51	49	9	115	138	64	94
	M	51	89	86	88	84	16	52	74	57	62
	G1	70	94	67	72	83	12	92	39	71	75
	G2	64	141	142	74	59	11	41	57	57	19
	G3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	V	105	135	120	-	72	12	68	132	-	49
	M	114	119	93	91	91	9	73	81	60	39
24	V	196	224	241	139	88	16	82	172	87	22
	M	83	112	92	92	73	11	160	79	95	48
	G1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	V	83	135	119	106	89	16	59	98	41	20
	M	72	146	125	122	100	14	93	74	53	56
	G1	76	117	74	84	99	16	165	28	56	58
26	V	108	136	107	93	64	u.6	50	58	24	u.62
	M	113	121	164	170	143	u.6	4	44	72	19
	G1	100	118	114	85	66	u.6	59	62	15	8
	G2	101	133	80	72	75	u.6	72	49	45	19
27	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	M	91	121	83	88	94	6	42	45	30	25
	G1	103	144	95	113	103	14	-	97	122	74
	G2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

V= Vater
M= Mutter
G= Geschwister

Die Überprüfung der Heterozygoten erbrachte für die Allele des A-Locus wie auch des B-Locus keine signifikante Abweichung von der zugrundegelegten Gleichgewichtshypothese. Folglich besteht bezüglich der Heterogenität der einzelnen Allele kein Unterschied zwischen juveniler Diabetikern und der Normalbevölkerung.

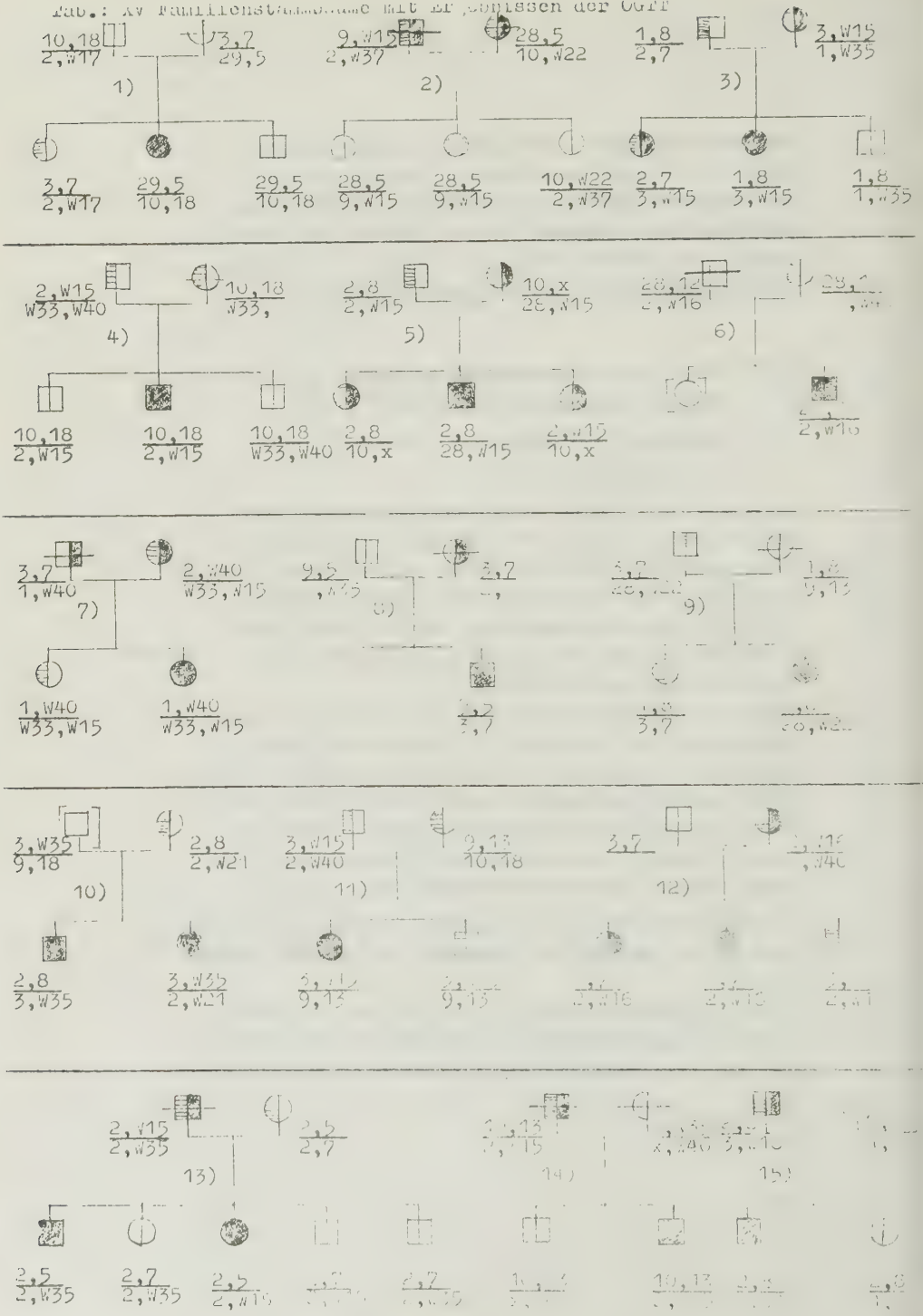
5.2. Orale Glukosebelastung bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern

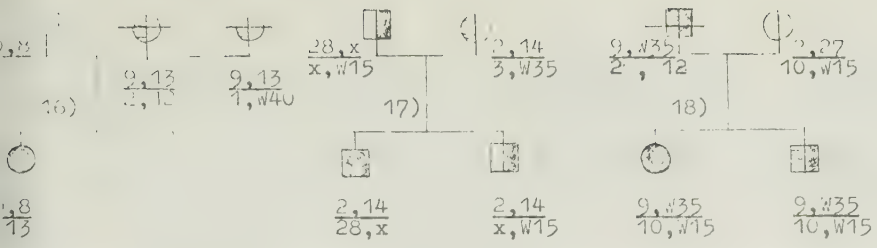
5.2.1 Häufigkeit von Störungen der Glukosetoleranz und Insulinantwort

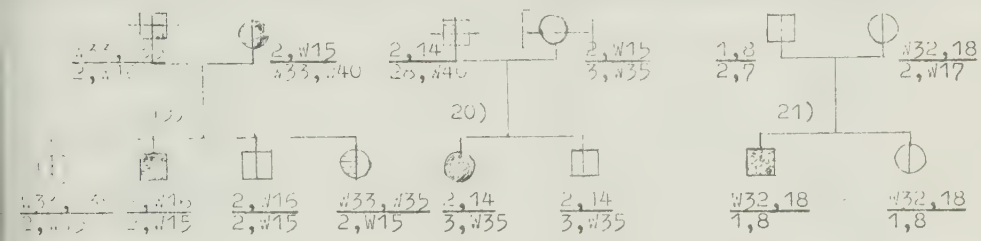
In Tabelle XIII sind die Stammbäume von 28 Diabetikerfamilien aufgezeichnet, bei denen keine Möglichkeit bestand, eine orale Glukosebelastung durchzuführen. Bei den HLA-typisierten Patienten und Familienangehörigen wurden die Haplotypen angegeben. Eine familiäre Diabetesdisposition der Eltern wurde jeweils durch Querbalken im Geschlechtssymbol markiert.
Diese Untersuchung war nur insofern informativ, als sie die Deduktion der Haplotypen der diabetischen Kinder ermöglichte und zugleich den Erbgang der Haplotypen von den Eltern auf die Nachkommen veranschaulicht. Daneben konnten die Befunde bei der Untersuchung der Rekombinationsfrequenz innerhalb des HLA-Systems verwendet werden. In keiner Familie wurde eine HLA-Rekombination gefunden.

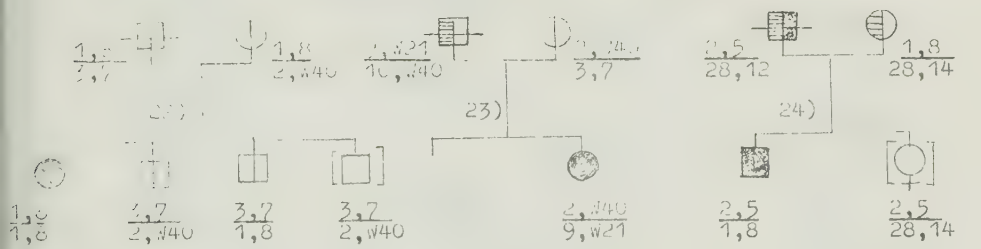
In Tabelle XIV sind die Meßergebnisse des Glucosetoleranztests bei 27 Familien (85 Verwandten ersten Grades) dargestellt.
17 von 51 getesteten Eltern wiesen nach den vorgegebenen Kriterien (siehe Methodik) eine verminderte Glucosetoleranz auf. Dies entspricht einem Prozentsatz von 33% bezo-

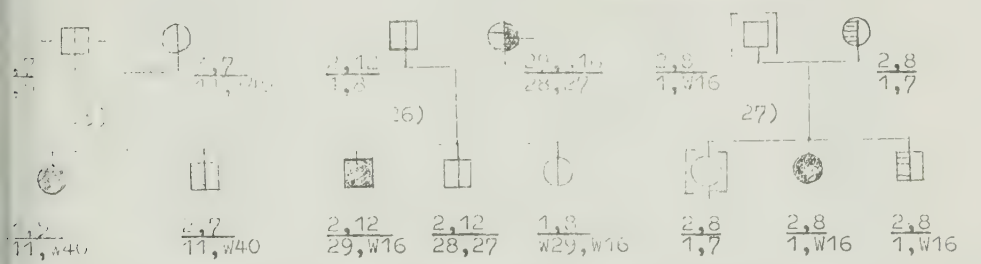
Tab.: XV Familienstammbäume mit Erbgängen der Orff











: familiäre Diabetesanamnese

: OGTT+Geruminsulin normal

: Insulinsekretion gestört

: Glucosetoleranz vermindert

: Insulinsekr.+Gluc.tol.gestört

: manifester juv.Diabetes mell.

Erklärung der Haplotyp-Schreibweise: z.B. 1,8 bedeutet: HLA A1 - B8

Segregation von HL-A Haplotypen mit path. OGTT und verschiedenartigen Störungen der Insulinantwort in Familien von juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern (N= 27)

Familie Nr.	Fam. Mitgl.	path. OGTT	Insulin-antwort	HL-A Haplotyp
1	V	-	n	10-18/2-17
	M	-	n	3-7/29-5
	G1	-	erhöht	3-7/2-17
	G2	-	n	10-18/29-5
2	V	+	verzögert	9-15/2-37
	M	+	erhöht	28-5/10-22
	G1	-	n	9-15/28-5
	G2	-	n	10-22/2-37
3	V	-	erhöht	1-8/2-7
	M	+	erniedr.+verzög.	3-15/1-35
	G1	+	verzögert	3-15/2-7
	G2	-	n	1-8/1-35
4	V	-	erniedrigt	2-15/33-40
	M	-	erniedrigt	10-18/33-
	G1	-	n	10-18/2-15
	G2	-	n	10-18/33-40
5	V	-	erniedrigt	2-8/2-15
	M	+	verzögert	10- /28-15
	G1	+	erhöht	2-15/10-
	G2	+	erhöht+verzög.	2-8/10-
6	V	-	n	28-12/2-16
	M	-	erhöht	28-12/40-
7	V	+	n	3-7/1-40
	M	+	erhöht+verzög.	2-40/33-15
	G1	-	erhöht	1-40/33-15
8	V	-	n	9-5/ -35
	M	+	n	3-7/2-
9	V	-	erhöht+verzög.	3-7/28-22
	M	-	n	1-8/9-13
	G1	-	erhöht	1-8/3-7
10	V		nicht getestet	3-35/9-18
	M	-	erhöht	2-8/2-21
11	V	-	erhöht	3-15/2-40
	M	-	erhöht	9-13/10-18
	G1	-	erhöht+verzög.	3-15/9-13

12	V	-	n	3-7/
	M	+	verzögert	2-16/ -40
	G1	+	erniedr.+verzög.	3-7/2-16
	G2	-	erhöht	3-7/2-16
13	V	+	verzögert	2-15/2-35
	M	-	verzögert	2-5/2-7
	G1	-	n	2-7/2-35
	G2	-	n	2-7/2-15
	G3	-	n	2-7/2-35
14	V	+	erhöht+verzög.	10-13/2-15
	M	-	n	2-35/x-40
	G1	-	n	10-13/x-40
15	V	+	erhöht	2-8/3-16
	M	-	n	9-15/1-8
	G1	-	erhöht	2-8/1-8
16	V	-	n	10-8/9-
	M	-	erhöht	9-13/2-12
	G/M	-	erhöht	9-13/1-40
17	V	+	n	28-x/x-15
	M	-	erniedrigt	2-14/3-35
	G1	+	n	2-14/x-15
18	V	+	verzögert	9-35/2-12
	M	-	n	2-27/10-15
	G1	+	verzögert	9-35/10-15
19	V	+	n	33-35/2-16
	M	+	erhöht+verzög.	2-15/33-40
	G1	-	erhöht	33-35/2-15
	G2	-	n	2-16/2-15
	G3	-	erhöht	33-35/2-15
20	V	-	erhöht	2-14/28-40
	M		nicht getestet	2-15/3-35
	G1	-	n	2-14/3-35
21	V	-	n	1-8/2-7
	M	-	n	32-18/2-17
	G1	-	n	32-18/1-8
22	V	-	erhöht	1-8/3-7
	M	-	n	1-8/2-40
	G1	-	n	3-7/2-40
	G2	-	n	3-7/1-8
	G3		nicht getestet	3-7/2-40
23	V	-	erhöht	9-21/10-40
	M	-	n	2-40/3-7
24	V	+	erhöht	2-5/28-12
	M	-	erhöht	1-8/28-14
	G1		nicht getestet	2-5/28-14

[illegible]	V	–	n	[illegible]
	M	–	n	[illegible]
	G1	–	erhöht	[illegible]
[illegible]	V	–	n	[illegible]
	M	+	verzögert	[illegible]
	G1	–	n	[illegible]
	G2	–	n	[illegible]
[illegible]	V	nicht getestet		[illegible]
	M	–	erniedrigt	[illegible]
	G1	–	erhöht+verzögert	[illegible]
	G2	nicht getestet		

V = Vater
M = Mutter
G = Geschwister

gen auf die Gruppe der Eltern.
6 von 34 getesteten Geschwistern der juvenilen Diabetiker (entspricht 18% von 34) zeigten unter oraler Glucosebelastung eine verminderte Glucoseutilisation.
Damit errechnet sich bei den Verwandten ersten Grades ein Gesamtprozentsatz von 27.1 % mit einer gestörten Glucosetoleranz.

30 Eltern wiesen unter oraler Glucosebelastung Normabweichungen (Normwerte siehe Methodik) der Insulinantwort auf (entspricht 59%). Unter den Geschwistern war die Insulinantwort in 16 Fällen (= 47%) gestört.
Der Gesamtprozentsatz der Probanden mit einer gestörten Insulinsekretion betrug 54.1 %.

Tabelle XV gibt eine Übersicht über alle Familien, die sich einem oralen Glucosetoleranztest unterzogen hatten, in Form der einzelnen Stammbäume. Dabei wurden die HLA-Haplotypen der einzelnen Probanden eingetragen. Die Ergebnisse des Belastungstests sind an den Geschlechtssymbolen abzulesen. Die juvenilen Diabetiker wurden besonders gekennzeichnet. (siehe Legende zu Tab. XV) Auf diese Weise läßt sich die Segregation von HLA-Haplotypen mit Störungen der Glucosetoleranz und Insulinsekretion in den Familien verfolgen.

Zur besseren Überschaubarkeit sind die Ergebnisse der Glucosebelastung in Tabelle XVI nochmals aufgeführt. Die Störungen der Insulinantwort wurden, wie oben (Methodik) beschrieben, in einzelne Sekretionstypen differenziert (erhöht, erniedrigt, verzögert und Kombinationen). Bei 14 von 27 (= 51.9%) untersuchten Familien zeigte wenigstens eine Testperson eine Störung der Glucosetoleranz. In sechs Familien handelte es sich dabei um einen Einzelfall, siebenmal war die Glucosetoleranz bei zwei Personen verschlechtert (viermal davon bei einem Elter und einem Geschwister, dreimal bei beiden Eltern) und einmal bei drei Personen

Tab.: XVII

Segregation von HLA- Antigenen mit Störungen der Glucosetoleranz und Insulinsekretion in Familien von juvenilen Diabetikern nach oraler Zufuhr von 100g Glucose

Familie Nr.	Störung der OGTT	IS	Segregation mit OGTT	IS	HLA- Haplotyp
1	-	+		-	
2	+	+	keine definitive Aussage möglich		
3	+	+	+	+	A3 - BW15
4	-	+	keine definitive Aussage möglich		
5	+	+	"	"	"
6	-	+	"	"	"
7	+	+	-	+	AW33 - BW15
8	+	-	keine definitive Aussage möglich		
9	-	+		-	
10	+[1]	+	keine definitive Aussage möglich		
11	-	+		+	A9 - B13 od. A3 - BW1
12	+	+	+	+	A2 - BW16
13	+	+	-	+	A2 - B5
14	+	+	keine definitive Aussage möglich		
15	+	+	-	+	A2 - B8
16	-	+		+	A9 - B13
17	+	+	keine definitive Aussage möglich		
18	+	+	+	+	A9 - BW35
19	+	+	-	+	A2 - BW15
20	-	+	keine definitive Aussage möglich		
21	-	-			
22	-	+	keine definitive Aussage möglich		
23	-	+	"	"	"
24	+	+	"	"	"
25	-	+	"	"	"
26	+	+	"	"	"
27	-	+		+	A2 - B8

[1] Doppelfall, d.h. 2 Kinder diabetisch

(Mutter und zwei Geschwister). In 25 Familien (= 92.6%) lag eine Störung der Insulinantwort bei wenigstens einer Testperson vor. Bei insgesamt 46 Probanden mit Insulinsekretionsstörungen wurde fünfmal eine erniedrigte Insulinantwort, zehnmal eine Verzögerung und zweimal eine Kombination aus Sekretionsminderung und -verzögerung festgestellt. 22 Personen reagierten auf orale Glucoseverabreichung mit einer über die Norm erhöhten Insulinsekretion. 7 Personen hatten erhöhte Werte und einen verzögerten Anstieg.

5.2.2. Segregationsanalyse

In Tabelle XVII wurde der Versuch einer Segregationsanalyse unternommen. Dazu wurde untersucht, ob HLA-Haplotypen in den Familien mit den gefundenen Störungen segregieren. Grundvoraussetzung für eine definitive Aussage war, daß beide Eltern und wenigstens zwei Kinder in jeder Familie HLA-typisiert waren und bei diesen Personen eine Glucosebelastung durchgeführt worden war oder ein manifester Diabetes vorlag. Außerdem mußten alle Haplotypen klar definiert sein. Bei der Segregationsanalyse wurden Störungen der Glucoseutilisation und Normabweichungen der Insulinantwort getrennt behandelt. Eine positive Segregation mit einem HLA-Haplotypen lag z.B. dann vor, wenn in einer Familie der Vater, der manifest diabetische Patient und mindestens eines der Geschwister einen gemeinsamen Haplotypen aufwiesen, - d.h. die beiden Kinder mußten den gleichen paternalen Haplotypen geerbt haben - und die beiden Probanden (Vater und Geschwister) bezüglich der gefundenen Störung konkordant waren. Dies war z.B. bei Familie Nr. 3 (siehe Tab. XV + XVII) der Fall. Hier wurden sowohl bei der Mutter, die eine Störung der Glucosetoleranz und Insulinant-

wort hatte, als auch bei einem Geschwister mit den gleichen Störungen und dem Patienten der Haplotyp A3-BW15 festgestellt. Dagegen hatten die Kinder vom Vater, der übrigens auch eine Störung der Insulinantwort erkennen ließ, zwei verschiedene Haplotypen geerbt (nämlich A2-B7 und A1-B8). Das dritte der untersuchten Kinder hatte von der Mutter den Haplotypen A1-BW35 und vom Vater A1-B8 bekommen. Bei diesem Kind waren die Ergebnisse der Glucosebelastung im Normbereich. Es ließ sich hier also die definitive Aussage treffen, daß Verschlechterung der Glucosetoleranz und verminderte bzw. verminderte und zugleich verzögerte Insulinantwort (siehe Tab. XVI Fam. Nr. 3) mit dem maternalen Haplotypen A3-BW15 segregierten.
In Tabelle XVII sind die Ergebnisse der Segregationsanalyse bei den einzelnen Familien dargestellt. In 14 Fällen war aus den oben angeführten Gründen keine definitive Aussage möglich.
In drei von 13 informativen Familien lag eine Störung der Glucosetoleranz bei einem Probanden vor. In allen drei Fällen wurde eine positive Segregation mit HLA-Haplotypen gefunden, und zwar mit A3-BW15, A2-BW16 und A9-BW35.
In 12 von 13 informativen Familien befanden sich Probanden mit gestörter Insulinsekretion. Nur in zwei Fällen davon sprach die Analyse eindeutig gegen eine gemeinsame Segregation. Unter den positiven Fällen befanden sich folgende Haplotypen: A3-BW15, AW33-BW15, A9-B13 oder A3-BW15, A2-BW16, A2-B5, A2-B8, A9-B13, A9-BW35, A2-BW15 und A2-B8.

5.2.3. Assoziation mit HLA-Antigenen

Nachdem die Untersuchungen an juvenilen Diabetikern, wie oben gezeigt, eine signifikant positive Assoziation der HLA-Antigene B8 und BW15 mit der klinisch manifesten Form

Tab.: XVIII

Signifikanz der Assoziation von HLA B8 und BW15 mit Störungen der OGTT und Insulinsekretion nach oraler Zufuhr von 100g Glucose bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern

---

I.HLA B8

	B8 positiv	negativ	Total
pathol. OGTT	2	21	23
normale OGTT	19 (17)	43	62 (60)
Total	21 (19)	64	85 (83)

X^2 = 5.61 (3.49) daraus folgt: B8 ist negativ korreliert mit path. OGTT

	B8 positiv	negativ	Total
gestört. IS	11 (10)	35	46 (45)
normale IS	10 (9)	29	39 (38)
Total	21 (19)	64	85 (83)

X^2 = 0.19 (0.18) daraus folgt: keine signifikante korrelation mit gest.IS

II.HLA BW15

	BW15 positiv	negativ	Total
pathol. OGTT	12	11	23
normale OGTT	13 (11)	49	62 (60)
Total	25 (23)	60	85 (83)

X^2 = 6.44 (7.89) daraus folgt: BW15 ist positiv korreliert mit path. OGTT

	BW15 positiv	negativ	Total
gestört. IS	17 (16)	29	46 (45)
normale IS	8 (7)	31	39 (38)
Total	25 (23)	60	85 (83)

X^2 = 2.01 (2.22) daraus folgt: BW15 ist positiv korreliert mit gestörter Insulinsekretion

Erläuterung: in Klammern Zahl der Testpersonen nach Abzug der B8 und BW15 Fälle, z.B. A1-B8/A2-BW15
X^2- Werte korrigiert nach Yates (siehe Tab.IX)

der Erkrankung aufgezeigt hatten, schien es besonders interessant zu klären, ob und wie stark subklinische Störungen der Stoffwechselregulation bei den Verwandten ersten Grades mit diesen Antigenen assoziiert sein würden.

Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle XVIII zusammengefaßt. Störungen der Insulinsekretion und Herabsetzung der Glucosetoleranz wurden getrennt behandelt. Es wurde in einem einfachen Chi-Quadrattest der Vergleich zwischen den Probanden mit positiven Testergebnissen und den Personen mit normal verlaufener OGTT angestellt und dazu jeweils die Anzahl der B8 oder BW15 positiven bzw. negativen Individuen in eine 2 x 2 Tabelle (siehe oben) eingetragen. Da es nicht möglich war, bei B8 u n d BW15 positiven Personen zu entscheiden, welches der Antigene Diabetes-assoziiert war, wurde zur besseren Information und, um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden, die Zahl der eindeutig definierten Fälle in Klammern zusätzlich angegeben. Die Wahrscheinlichkeit p wurde für jedes X^2 unter Berücksichtigung der Probengröße in naturwissenschaftlichen Tabellen (236) nachgeprüft.

Von 23 Probanden mit einer Störung der Glucoseutilisation waren 21 Personen B8 - negativ (91.3%). Unter den Testpersonen mit einer normalen Glucosetoleranz nach oraler Belastung (n = 62) waren 43 B8-negativ (69.4%). Daraus ergab sich ein Chi-Quadrat von 5.61, d.h. B8 war mit dem pathologischen Verlauf der OGTT eindeutig n e g a t i v korreliert.
12 von 23 Testpersonen mit verminderter Glucosetoleranz waren HLA-BW15 positiv. Dies entspricht ca. 52.2%. Dagegen waren nur 13 von 62 Verwandten juveniler Diabetiker, die eine normale OGTT vorwiesen, BW15-Träger (ca. 21.0%). Daraus ergab sich $X^2 = 6.44$. Es bestand also eine deutliche positive Assoziation von BW15 mit Störungen der oralen Glucosetoleranz.

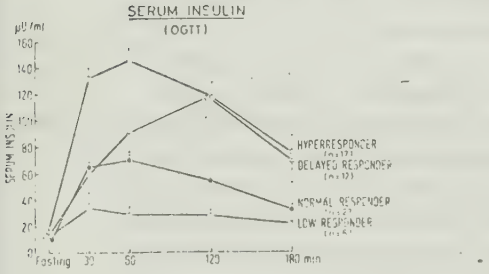
Tab.: XIX

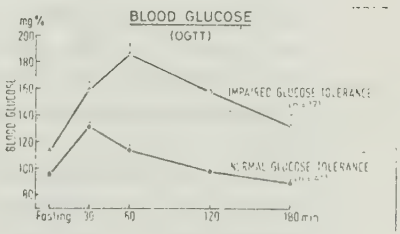
Insulinsekretion nach oraler Zufuhr von 100g Glucose bei Verwandten Iten Grades von juvenilen Diabetikern (n = 85)

Störung d. Insulin-Antwort	erniedrigt	erhöht	verzögert	erniedr.+verz.	erhöht+verz.
Total (n = 46)	5	22	10	2	7
Probanden mit Übergewicht	-	5	3	-	3
Probanden mit zus. gestörter OGTT	-	4	9	1	4
Segregation mit HL-A					
B8	1	7 (2Ü)	1 (1Ü)	-	1
BW15	1	5	4 (1Ü)	1	5 (3Ü)
B8+W15	1	-	-	-	-

(in Klammern Anzahl der Übergewichtigen (Ü))

Fig. 3 (Seruminsulin unter OGTT) und Fig. 4 (Blutglucose unter OGTT bei Verwandten ersten Grades juveniler Diabetiker[1])





1

Insulinsekretionsprofile während einer OGTT bei Verwandten ersten Grades von juv. Diab. ($\bar{x} \pm$ SEM)

Blutglucosespiegel während einer OGTT bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern ($\bar{x} \pm$ SEM)

11 von insgesamt 46 Personen, bei denen eine Störung der Insulinantwort festgestellt worden war, besaßen das Antigen B8 (= 23.9%). Unter den Personen mit normaler Insulinsekretion während OGTT - insgesamt 39 - befanden sich 10 B8-Träger (= 25.6%). Der entsprechende Chi-Quadratwert betrug 0.19, d.h. es lag für B8 keine Korrelation mit Störungen der Insulinantwort vor.
17 von 46 Testpersonen mit einer gestörten Insulinantwort waren BW15 positiv. Dies entspricht etwa 37%. Unter 39 normal sezernierenden Personen befanden sich 8 mit BW15 (20.5%). Mit einem resultierenden X^2 von 2.01 ergab sich für BW15 eine positive Korrelation mit Störungen der Insulinantwort.

5.2.4. Einfluß von Übergewicht und Alter auf die OGTT-Ergebnisse

In Tabelle XIX wurde der Versuch unternommen, die unterschiedlichen Sekretionstypen bei den gefundenen Störungen der Insulinantwort mit den HLA-Antigenen B8 bzw. BW15 zu korrelieren. Daneben wurde auch ein eventuell vorliegendes Übergewicht des Probanden berücksichtigt, das den Verlauf der Insulinantwort beeinflußt hätte. Auf eine statistische Auswertung der gefundenen Zahlen mußte wegen der geringen Probengröße verzichtet werden.
Von insgesamt 46 Personen mit einer gestörten Insulinantwort waren 11 (23.9%) stark übergewichtig (mehr als 20% über Sollgewicht nach B r o c a). Von diesen Probanden wies kein einziger eine Verminderung seiner Insulinsekretion auf. Fünf übergewichtige Personen reagierten auf Glucosegabe mit einer erhöhten Sekretion, drei mit einer verzögerten und drei Probanden mit einer erhöhten und zugleich verzögerten Insulinantwort.
18 von 46 Personen mit einer Insulinsekretionsstörung zeigten eine verminderte Glucosetoleranz. Neunmal war die patho-

Tab.: XX

Einfluß von Manifestationsalter und Übergewicht auf die Verteilung von HLA-Haplotypen bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern mit Störungen der OGTT und/oder Insulinsekretion

---

I. Manifestationsalter

	unter 35 Jahre	über 35 J.
Total	34	51
pathol. OGTT	6	17
Störg. d. IS	16	30
path. OGTT + HLA B8	1	1
" " + " BW15	4	9
Störg. d. IS + " B8	4	7
" " " + " BW15	7	10

daraus folgt: keine signifikante Verschiebung

II. Übergewicht (mindestens 20% über Normalgewicht nach Broca)

	Normalgewicht	Übergewicht
Total	70	15
pathol. OGTT	13	10
Störg. d. IS	35	11
path. OGTT + HLA B8	1	1
" " + " BW15	8	4
Störg.d.IS + " B8	8	3
" " " + " BW15	13	4

daraus folgt: keine signifikante Verschiebung

logische OGTT mit einer Verzögerung der Insulinantwort verbunden, viermal lag gleichzeitig eine Erhöhung bzw. eine Erhöhung und Verzögerung der Sekretion vor. Nur in einem Fall wurde eine Verminderung und gleichzeitige Verzögerung der Insulinantwort gefunden.
Bei insgesamt 22 der getesteten Verwandten von juvenilen Diabetikern fand sich eine Erhöhung der Insulinantwort; zehnmal war die Sekretion verzögert, siebenmal erhöht und verzögert, fünfmal erniedrigt und zweimal erniedrigt und verzögert. Die Verteilung der HLA-Antigene B8 und BW15 bei den Probanden ließ keine Korrelation zu einem bestimmten Störungstyp der Insulinantwort erkennen. Die Antigenfrequenz hing vielmehr von der Häufigkeit der jeweiligen Sekretionsstörung und der Frequenz des Antigens im Genpool der Testgruppe ab. So wurde bei der Erhöhung der Insulinantwort siebenmal das Antigen B8 und fünfmal BW15 gefunden von insgesamt 22 Fällen. Bei fünf Fällen mit verminderter Sekretionsleistung wurde einmal B8, einmal BW15 und einmal B8 und BW15 gefunden. (übrige Ergebnisse siehe Tab. XIX)

In Fig. 3 und 4 wurden die Ergebnisse der OGTT in Form von Verlaufskurven von Seruminsulin und Blutglucose über 180 Minuten graphisch dargestellt. Die Meßpunkte stammen aus den entsprechenden Mittelwerten in den einzelnen Probandengruppen zum angegebenen Zeitpunkt.
Wenngleich die Zahlen zu gering sind, um daraus schon Schlüsse ziehen zu wollen, war es doch interessant festzustellen, daß gerade unter den Personen mit einer erhöhten Insulinantwort bei B8 und BW15-Trägern verhältnismäßig selten ein Übergewicht vorlag (nur 2 B8-Träger übergewichtig).

In Tabelle XX wurde schließlich untersucht, ob die gefundene Assoziation von HLA B8 und BW15 mit einer verminderten Glucoseutilisation bzw. gestörten Insulinantwort unter OGTT altersabhängig sein könnte. Anstoß zu dieser Überlegung war die

Tatsache, daß mit zunehmendem Lebensalter die Gefahr, einen Diabetes zu bekommen, exponential anwächst, wobei exogene Faktoren als Auslöser der Erkrankung mehr und mehr an Bedeutung gewinnen.
Wie aus Tabelle XX hervorgeht, wurde zwischen zwei Altersgruppen unterschieden. 34 Personen unter 35 Jahren wurden 51 Probanden über 35 Jahre gegenübergestellt. Störungen der OGTT fanden sich bei sechs Personen der unter 35jährigen und bei 17 Probanden über 35 Lebensjahren. Dies entspricht etwa 18 gegenüber 33% bezogen auf die Gesamtanzahl der Testpersonen in der jeweiligen Altersgruppe. Das gleiche Verhältnis - nämlich etwa 1 : 2 - ergab sich bei der Auszählung der B8 und BW15 positiven Probanden mit gestörter Glucoseutilisation (B8: 1:1; BW15: 4:9).
Bei Störungen der Insulinsekretion verhielten sich die Zahlen ähnlich. 16 Testpersonen mit einer gestörten Insulinantwort waren unter 35 Jahre und 30 Individuen über 35 (ungefähr 47% gegenüber 59%). Die Auszählung der HLA B8 und BW15 Frequenzen in den beiden Gruppen ergab folgendes: B8 unter 35 J.: 4 ; über 35 J.: 7; BW15 unter 35 J.: 7 ; über 35 J.: 10.
Es konnte also weder für die Korrelation von B8 und BW15 mit Störungen der Glucoseutilisation noch mit einer Störung der Insulinantwort eine Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden festgestellt werden. Die bekannte Altersabhängigkeit derartiger Störungen wurde dagegen durch die Ergebnisse bstätigt.
In Tabelle XX wurde die Verteilung normal- und übergewichtiger Testpersonen unter B8 bzw. BW15 positiven Probanden mit Störungen der OGTT bzw. Insulinantwort dargestellt, um mögliche Einflüsse des exogenen Faktors "Übergewicht" auf das Testergebnis festzuhalten. Die Verteilung der B8 und

BW15 positiven Personen war dabei zwischen beiden Gruppen ausgeglichen, so daß keine signifikante Verschiebung festgestellt werden konnte.

6. Diskussion

6.1.1. HLA-Phäno- und Genotypfrequenzen

HLA-Antigene werden ähnlich wie die Blutgruppeneigenschaften als codominante Merkmale vererbt. Die Vererbungseinheit, der Haplotyp, besteht aus zwei Allelen zweier verschiedener HLA-Loci (z.B. A-Antigen gekoppelt mit B-Antigen). Die Häufigkeitsverteilung der Haplotypen und damit auch der HLA-Antigene innerhalb einer Population folgt genetischen Gesetzmäßigkeiten, wird aber daneben auch von anderen Faktoren wie Selektion, Migration, einer sich heute immer stärker bemerkbar machenden Vermischung unterschiedlicher Populationen und letztlich vom Zufall beeinflußt.

Die erwartete Häufigkeit eines Haplotypen hängt von den Genfrequenzen der beteiligten Antigene in einer Population ab (sogen. Kopplungsgleichgewicht). Verschiedene genetische Phänomene (siehe oben) führen über mehrere Generationen hinweg zu einer Begünstigung bestimmter Haplotypen, während andere Kombinationen von Allelen seltener als erwartet auftreten (sogen. Kupplungsungleichgewicht). Die Tendenz zur Ausprägung eines Kopplungsungleichgewichtes ist umso stärker, je enger die Genloci der Allele eines Histokompatibilitätssystemes benachbart sind. Entsprechend findet sich ein Kopplungsungleichgewicht als regelmäßiges Charakteristikum des HLA-Systems, aber auch z.B. im Rh-, MNSs- und in anderen Histokompatibilitätssystemen verschiedener Spezies. Dem Kopplungsungleichgewicht wirkt die Rekombination zwischen den beteiligten Genorten entgegen.

Auf diese Weise kommt es - abhängig von der Rekombinationsfrequenz, die mit abnehmender Distanz zwischen den Loci wächst - zu einer Rückkehr zum ursprünglich bestehenden Kopplungsgleichgewicht.

Diese Phänomene spielen bei jeder populationsgenetischen Untersuchung eine äußerst wichtige Rolle und sind selbstverständlich bei jeder Interpretation möglicher Assoziationen von HLA-Antigenen oder Haplotypen mit bestimmten Erkrankungen zu berücksichtigen.

Neuere Untersuchungen in verschiedenen europäischen bzw. kaukasischen Populationen deckten eine Assoziation der HLA-Antigene B8 und BW15 (163, 59, 115, 82, 11) mit der juvenilen insulinpflichtigen Form des Diabetes mellitus und zwischen B8 und der insulinpflichtigen Form des Erwachsenendiabetes (60) auf. Eine Frequenzerhöhung des Antigens B18 und eine Verminderung von B7 wurde von manchen Untersuchern beobachtet, von anderen nicht. B18 scheint vor allem in der französischen und britischen Bevölkerung bei juvenilen Diabetikern vermehrt aufzutreten (164b). Die Frequenzminderung bei B7 ist möglicherweise auf die starke Erhöhung der Frequenzen von B8 und BW15 zurückzuleiten, die zwangsläufig zu einer Abnahme bei den übrigen Allelen des B-Locus führt. Eine Typisierung der HLA-D Antigene wurde bisher nur von T h o m s e n et al. (212) durchgeführt, der Dw3 und/oder Dw4 bei 82% der Diabetiker fand, verglichen mit nur 25% in der Gesamtbevölkerung.

Untersuchungen an Mitgliedern nichtkaukasischer Rassen liegen bisher kaum vor, so daß ein Vergleich der Ergebnisse noch nicht abgeschlossen werden kann. W a k i s a k a et al. fanden bei einer Untersuchung in der japanischen Bevölkerung für B8 sowohl in den Kontrollen als auch bei den diabetischen Probanden eine Frequenz von 0 (220). BW15 war bei den Patienten gegenüber der Kontrollgruppe

nicht signifikant vermindert. Dagegen fand sich bei den Diabetikern eine signifikante Frequenzerhöhung des Antigens BW22 J (220). Diese Spezifität tritt nur in der japanischen Bevölkerung auf. G a z i t et al. stellten bei juvenilen Diabetikern im Vergleich mit der jüdischen Normalbevölkerung des Staates Israel eine nicht signifikante Frequenzvermehrung des Antigens B8 und eine auch nach Korrektur signifikante Erhöhung von Aw26 (83) fest. Eine vergleichende Studie in drei verschiedenen ethnischen Gruppen der amerikanischen Bevölkerung (weiß, mexikanisch und schwarz) ergab in allen drei Gruppen eine deutliche, wenngleich nur bei der weißen Bevölkerung signifikante Frequenzerhöhung für B8 und BW15 (168) bei insulinbedürftigen Diabetikern.

Die hier vorliegenden Ergebnisse aus der Typisierung von juvenilen Diabetikern stimmen mit Befunden aus anderen Bevölkerungsgruppen Europas und Amerikas mit weißer Abstammung grundsätzlich überein: HLA B8 und BW15 sind mit dem juvenilen insulinpflichtigen Diabetes mellitus hochsignifikant assoziiert. Eine Frequenzminderung oder -erhöhung anderer Allele des B-Locus bzw. bei Allelen des A-Locus wurde zwar beobachtet, erwies sich jedoch in keinem Fall als statistisch signifikant. Diese Feststellung gilt auch für HLA B7 und BW18.

6.1.2. Relatives Erkrankungsrisiko

Das sogen. relative Risiko (rR), d.h. die Wahrscheinlichkeit, als Träger der HLA-Antigene B8 und/oder BW15 - verglichen mit Personen ohne diese Antigene - an Diabetes zu erkranken, leitet sich aus den Ergebnissen der HLA-Typisierung bei klinisch manifest erkrankten Patienten ab. Dieser Parameter ist also von der Genfrequenz des jeweiligen Antigens abhängig und läßt demnach andere exo- und endogene Faktoren, die bei der Pathogenese eine Rolle spie-

len könnten, außer Acht.

Bei Individuen, die sowohl HLA B8 als auch BW15 tragen, ist das relative Risiko neu zu berechnen, um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden. Nach N e r u p ergibt sich für Träger beider Antigene (B8 und BW15) ein etwa viermal höheres Risiko (rR = 9.8) als bei Personen mit einem der beiden Antigene (B8 : rR = 3.1; BW15 : rR = 2.1) (164b). Daneben ist sehr bemerkenswert, daß sich das relative Risiko bei homozygoten Trägern eines der beiden Antigene (z.B. 1-8/2-8) praktisch nicht von den Werten bei heterozygoten Personen unterscheidet. Folglich scheidet ein sogen. Gendosis-Effekt bei der Entstehung des Diabetes mellitus aus, d.h. es müssen zwei verschiedene Gene existieren, die zur Erhöhung des Erkrankungsrisikos beitragen: Eines davon assoziiert mit B8 und das andere mit BW15. Trägt eine Person beide HLA-Antigene, so wächst die Wahrscheinlichkeit, an Diabetes zu erkranken, beträchtlich an. Wie C e p p e l i n i einmal betont hat, handelt es sich hierbei wohl eher um ein klassisches Beispiel einer Überdominanz (wenn beide in Frage kommenden Gene auf demselben Locus liegen) oder einer Epistasis (wenn sie auf verschiedenen Genorten lokalisiert sind), jedoch kaum um ein Beispiel für einen rezessiven Vererbungsmodus (164b). Dabei ist nicht auszuschließen, daß durch eben diese Phänomene in Familienstudien zuweilen das Bild eines rezessiven Modus vorgespiegelt werden kann.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie errechnete sich für die Träger des HLA-Antigens B8 ein relatives Risiko, an Diabetes zu erkranken, von 3.1 und für BW15 positive Personen von 2.9. Die von verschiedenen Untersuchern aufgestellte Hypothese, daß das Antigen B7 möglicherweise mit einem Schutzfaktor gegen den Diabetes

mellitus gekoppelt sein könnte, bei dessen Wegfall das Erkrankungsrisiko anwachsen würde, konnte nicht bestätigt werden. Das relative Risiko betrug für B7 positive Personen 0.46. Der entsprechende Chi-Quadratwert erwies sich als nicht signifikant ($p_{korr.}$ = 0.108). Die Notwendigkeit einer Korrektur mit der Anzahl der getesteten Spezifitäten ist nicht unstrittig, da ein zufallsmäßig entstandener Frequenzunterschied - als Folge des HLA-Polymorphismus - auf Grund der übereinstimmenden Ergebnisse zahlreicher Voruntersuchungen ziemlich unwahrscheinlich ist.

6.1.3. HLA-Haplotypfrequenzen

Es stellt sich die Frage, ob sich die beobachteten Assoziationen zwischen HLA-Antigenen und Diabetes mellitus auf die Frequenzerhöhungen bei einzelnen Allelen der HLA-Loci gründen, oder ob dabei den Haplotypen, als den eigentlichen Vererbungseinheiten, vorrangige Bedeutung beizumessen ist. Verschiedene Beobachtungen sprechen gegen eine wesentliche Beteiligung von Haplotypen: Alle bisher gesicherten und statistisch signifikanten Assoziationen bestehen ausschließlich mit Allelen des B-Locus. Bei anderen HLA-assoziierten Erkrankungen, wie z.B. der Psoriasis, wurde durch Berechnung des relativen Risikos einmal für das gehäuft auftretende Antigen allein, und zum anderen für den häufigsten, dieses Antigen beinhaltenden Haplotypen, nachgewiesen, daß das relative Risiko bei Vorliegen des Antigens allein oder des entsprechenden Haplotypen gleich groß ist. Umgekehrt unterschied sich das relative Risiko für Individuen mit dem gekoppelten - nicht signifikant vermehrten - Allel des zweiten Locus nicht von dem Risiko für die Kontrollgruppe. Es wird deshalb vermutet, daß z.B. beim Diabetes die eigentliche Ursache der oft beobachteten

Frequenzerhöhung des HLA-Antigens A1 oder auch A2 in der Frequenzerhöhung des Antigens B8 zu suchen ist. Der Anstieg bei A1 ist damit Folge einer passiven Koppelung von A1 mit B8 - ein Haplotyp, der auch in der Normalbevölkerung häufig anzutreffen ist.

Treten HLA-Allele in Haplotypen häufiger gemeinsam auf, als dies bei einer zufällig entstehenden Kombination aufgrund der Genfrequenzen dieser Allele zu erwarten wäre, so liegt ein sogen. Kopplungsungleichgewicht vor. Es ist denkbar, daß eine derartige Begünstigung bestimmter HLA-Haplotypen die Folge einer biologischen Selektion innerhalb einer Population darstellt.

6.1.4. Heterogenität des juvenilen Diabetes mellitus

In der vorliegenden Studie wurde eine signifikante Frequenzerhöhung des Haplotypen A1-B8 bei juvenilen insulinpflichtigen Diabetikern nachgewiesen. Erhöhungen der Haplotypfrequenzen A2-B8, A9-B8 und A2-BW15 erwiesen sich als nicht signifikant. Die Frage nach der Ursache und Bedeutung des beobachteten Kopplungsungleichgewichtes für A1-B8 bei Diabetikern, das auch bei der Kontrollpopulation festzustellen ist, kann nicht eindeutig beantwortet werden.

Schon seit längerer Zeit steht fest, daß der Diabetes mellitus lediglich als Oberbegriff verschiedener Untergruppen von klinisch annähernd verwandten Erkrankungsformen mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund anzusehen ist. Diese Ansicht findet durch die HLA-Studien an Diabetikern eine weitere Bestätigung. Eine Assoziation mit HLA-Antigenen scheint nur bei insulinpflichtigen Formen vorzuliegen, wobei diese Feststellung für Fälle mit primärem Insulindefizit gilt. Untersuchungen bei juvenilen Diabetikern haben die Vermutung aufkommen lassen, daß es sich bei der insulinpflichtigen juvenilen Erkrankungsform ebenfalls

um eine heterogene Erkrankung handeln könne. In der Tat haben Populationsstudien gezeigt, daß Individuen mit dem HLA-B-Genotyp B8 u n d BW15 a) ein höheres Risiko, an Diabetes zu erkranken, tragen (202, 130), b) einen früheren Manifestationszeitpunkt aufweisen (130) und c) niedrigere Plasmakonzentrationen von C-Peptid zeigen (130), das als Indikator für das Ausmaß der Beta-Zelldestruktion gilt, als Individuen mit B8 o d e r BW15. Daneben wurde über eine Assoziation zwischen BW15 und der Höhe der vorgefundenen Insulinantikörpertiter (130, 103) berichtet, die möglicherweise als Indikator für die Schwere des zu erwartenden Krankheitsverlaufes zu bewerten ist. L u d w i g et al. (188, 134) versuchten, die Gruppe der juvenilen insulinpflichtigen Diabetiker nach dem Manifestationsalter aufzuschlüsseln. Bei der Unterteilung in zwei Altersgruppen (0-15 Jahre und älter als 15 Jahre bis 35 Jahre) fanden sie in beiden Kollektiven eine annähernd gleich starke Assoziation von B8 mit Diabetes, während BW15 und das ebenfalls bei Diabetikern vermehrt festgestellte Antigen CW3 bei den unter 15Jährigen eine auffallend niedrige Frequenz aufwiesen. Sie schlossen daraus, daß HLA-B8 eine besonders wichtige Rolle bei der Pathogenese des kindlichen Diabetestypes spiele, und daß die Antigene BW15 und/oder CW3 eher bei der Entstehung des Diabetes im fortgeschrittenen Jugendalter als möglicherweise additive prädisponierende Faktoren beteiligt sein könnten. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu der hier vorliegenden Studie, die auch bei den unter 12Jährigen eine hohe Frequenz des Antigens BW15 feststellte, wenngleich die Assoziation des Diabetes mit B8 wie bei den oben genannten Untersuchern stärker zu sein schien. Leider war die Zahl der Probanden über 13 Jahren zu klein, um über die Antigenfrequenzen in dieser Gruppe eine Aussage treffen zu können (siehe Tab. V).

Epidemiologische Untersuchungen in Großbritannien und den

USA (61, 81, 91) ergaben für den Ausbruch des Diabetes mellitus im Verlauf des Jahres zwei Häufigkeitsgipfel im Herbst bzw. Winter. Die Auswertung von 2000 frisch diagnostizierten Diabetesfällen, die der britischen Registrierstelle für Diabetes gemeldet worden waren, bestätigten saisonale Inzidenzschwankungen bei Patienten zwischen 0 - 15 Jahren mit einem Inzidenzmaximum im Herbst und im Winter (8). Bei der Gruppe der bis 4Jährigen wurden keine jahreszeitlichen Häufigkeitsschwankungen beobachtet. Zusätzlich fanden sich bei dieser Studie offensichtlich regionale Inzidenzunterschiede von Jahr zu Jahr, sowie eine nahezu simultane Manifestation bei Geschwisterpaaren mit Diabetesdoppelfällen. Ein Zusammenhang zwischen der saisonalen Inzidenzverteilung und HLA-Antigenen ist noch umstritten (8, 182, 61). C u d w o r t h fand eine Häufung der Antigene B8 und B8 u n d BW15 bei Fällen, die in der Winterperiode (Dezember 75 bis April 76) aufgetreten waren (61). Bei den Fällen, die im Herbst diagnostiziert worden waren, konnte er keine Assoziation mit B8 oder BW15 feststellen. In 37% der Fälle war der Manifestation eine Latenzperiode mit einer meist fieberhaften infektiösen Erkrankung vorausgegangen (41 Fälle). Bei 9 Fällen wurde anhand klinischer Symptome oder von Antikörpertiter-Bestimmungen ein abgelaufener viraler Infekt nachgewiesen (Varicellen (4 F.), Masern (1 F.), Röteln (1 F.), Hepatitisvirus (1 F.), Influenza (1 F.). Interessanterweise traten diabetische Symptome wie Polyurie und Polydipsie bei allen Patienten noch während oder sofort im Anschluß an die infektiöse Erkrankung auf.

Virale Infekte scheinen unter den Umweltfaktoren, denen bei der Pathogenese des Diabetes mellitus eine Bedeutung als möglichen Auslösern der Erkrankung zukommt, die wichtigste Rolle zu spielen. Das Inzidenzmaximum liegt in den Monaten der zweiten Jahreshälfte. Vorausgesetzt, daß jeder

Infekt erst nach einer gewissen Latenzzeit manifest wird, steht dieser Befund mit der saisonalen Häufung frischer Diabetesfälle im Herbst bzw. Winter in gutem Einklang.

Aus Experimenten an Mäusen und chinesischen Hamstern ist bekannt, daß Coxsackie B4 (CB4)- und Encephalomyokarditis-Viren zur Beta-Zelldestruktion führen können (44, 51, 186). Das Resultat ist ein Diabetes-ähnliches Syndrom mit einer pathologisch verminderten Glucosetoleranz und einer deutlichen Hyperglykämieneigung als Folge der verminderten Insulinsekretion. Folgende Beobachtungen waren dabei besonders interessant:

a) Eine Infiltration der pankreatischen Inselzellen mit mononukleären Zellen als Ausdruck der Zelldestruktion trat nur bei Mäusen mit erhaltener T-Zellfunktion auf. Bei Mäusen, denen der Thymus entfernt worden war, wurden weder eine Beta-Zelldestruktion noch eine Hyperglykämie gefunden, obwohl die Viren ihre Inseln kolonisiert hatten (33). Es wurde deshalb die Existenz eines Immunantwort-Genes postuliert, das die T-Zellfunktion kontrolliert und über diesen Weg eine Rolle bei der Pathogenese des Diabetes mellitus spielen könnte.

b) Bei der Überprüfung von F1-Generationen nach Kreuzung von infekt-resistenten und -empfänglichen Mäusestämmen stellte sich heraus, daß die Empfänglichkeit für diabetische Stoffwechselstörungen nach Infektion als rezessives Merkmal vererbt wurde. In der F2-Generation wurde eine unerwartet hohe Zahl diabetischer Tiere gefunden. Es wurde deshalb vermutet, daß mehr als ein Gen an der Entstehung des EMC-Diabetes beteiligt ist. Zahlreiche Inzuchtstämme erwiesen sich als resistent, d.h. sie entwickelten nach Infektion mit EMC-Viren weder einen manifesten Diabetes noch eine verminderte Glucosetoleranz (186).

c) In allen Studien fielen die Ergebnisse innerhalb der einzelnen Inzuchtstämme unterschiedlich aus (186). Frequenz und Schwere der diabetischen Stoffwechselstörungen hingen

offensichtlich von anderen, exogenen Faktoren ab.

M o r r i s et al. (151) fanden bei Diabetikern mit Antikörpern gegen pankreatische Inselzellen eine signifikant erhöhte Frequenz des HLA-Antigens B8. Die B8-Frequenz war bei Patienten mit mehr als fünfjährigem Bestehen erhöhter P.I.C.A. (pancreatic islet-cell antibodies)-Titer besonders hoch (71% der Patienten waren B8 positiv gegenüber 61% der Gesamtgruppe der untersuchten Diabetiker mit Inselzellantikörpern). Umgekehrt ergab eine Studie von I r v i n e et al. (99) keine Korrelation zwischen der Titerhöhe, den häufig beobachteten Titerschwankungen im Krankheitsverlauf, der Dauer der Antikörperproduktion und dem Vorliegen von HLA-B8, BW15 oder Cw3 und dem Ergebnis einer Glucosebelastung. L e n d r u m et al. (125) beobachteten keine Assoziation zwischen der Antikörperbildung und irgendeinem HLA-Phänotyp.

Ein Zusammenhang zwischen zellulären und humoralen Autoimmunphänomenen und HLA-Antigenen bei der Entstehung des Diabetes mellitus konnte bisher nicht nachgewiesen werden, jedoch konnten C h r i s t y et al. zeigen, daß bei verschiedenen endokrinen Erkrankungen mit einer Autoimmungenese, wie z.B. bei Morbus Addison oder dem Morbus Basedow, eine Assoziation mit HLA-B8 vorliegt (43).
Ein weiteres HLA-assoziiertes Immunphänomen bei der Pathogenese des Diabetes mellitus ist die Bildung von Insulinantikörpern. J a n s e n et al. (102) und K e c k et al. (110) konnten 1975 nachweisen, daß bei Mäusen die genetische Kontrolle der humoralen Immunantwort gegen Insulinarten anderer Spezies dem H-2 System unterliegt. Die Tiere wiesen dabei ein unterschiedliches Immunverhalten gegenüber den verwendeten Insulinsorten auf, das durch die Unterscheidung zwischen sogen. Respondern und Nonrespondern

charakterisiert wurde. Die Immunantwort war dabei unabhängig von der Herkunft des zugeführten Insulins (Rind oder Schwein). Analoge Verhältnisse liegen beim Menschen vor. B e r t r a m s et al. (18) fanden eine Assoziation von HLA-BW15 mit einer starken humoralen Immunantwort auf artfremdes Insulin (sogen. high-response), und eine Assoziation zwischen schwachen oder fehlenden Immunreaktionen und der Anwesenheit von B8 und dem Fehlen des HLA-Antigens B7 (sogen. non-response). Im Gegensatz dazu stellten S c h e r n t h a n e r et al. (189) gerade bei sogen. non-Respondern eine positive Assoziation mit HLA-B7 fest, während sogen. High-Responder eine negative Assoziation mit B8 und eine positive Assoziation mit BW15 erkennen ließen. Dieser Befund konnte von L u d v i g s s o n (130) bestätigt werden.

6.1.5. Hypothesen über die Assoziation HLA-juveniler Diabetes mellitus

Grundsätzlich gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten für die Assoziation HLA-Diabetes mellitus: a) eine direkte Beteiligung von HLA-Antigenen bei der Pathogenese und b) eine indirekte Beteiligung.

6.1.5.1. Direkte Beteiligung an der Pathogenese

a) Rezeptorhypothese

Es ist denkbar, daß HLA-Antigene in ihrer Eigenschaft als Oberflächenantigene von kernhaltigen Zellen und Thrombozyten möglicherweise selbst als Bindungsstellen (Rezeptoren) von Antigenen bakterieller oder viraler Herkunft fungieren. Über eine Steigerung der Membranpermeabilität könnten z.B. Viruspartikel in das Zellinnere von Beta-Zellen gelangen und eine Replikation krankhaft veränder-

ter Zellen bewirken. Zwei Überlegungen sprechen gegen diese Hypothese:

HLA-Antigene werden als codominante Merkmale vererbt. Dies würde bedeuten, daß eine HLA-assoziierte Empfänglichkeit für diabetogene Viren als dominantes Merkmal vererbt wird. Dafür besteht bisher kein Hinweis. Der extreme Polymorphismus des HLA-Systems und damit der postulierten Zellrezeptoren ist unvereinbar mit der Tatsache, daß nahezu jeder Mensch - unabhängig von seinem HLA-Phänotyp - von Viren wie z.B. Masern, CB4 oder Influenza befallen werden kann.

Tierversuche haben außerdem ergeben, daß auch in Zellen, die ihre Histokompatibilitätsantigene verloren haben, eine Virusreplikation stattfinden kann (46). S v e j g a a r d und R y d e r (203) haben eine interessante Hypothese aufgestellt, die ebenfalls von der Rezeptortheorie, jedoch ohne immunologischen Hintergrund, ausgeht. Sie postulierten eine mögliche direkte Interaktion zwischen HLA-Molekülen und nicht-immunologischen Liganden wie z.B. Hormonen, also auch Insulin. Das HLA-System stellt selbst ein Ligand/Rezeptorsystem dar. Bei dem ausgeprägten Polymorphismus des HLA-Systems in einer Population wäre es denkbar, daß Interaktionen mit anderen Ligand/Rezeptor-Systemen mit ähnlicher chemischer Struktur zustande kommen könnten.

Mehrere Befunde könnten im Sinne dieser Hypothese diskutiert werden:

1.) Bei der Maus scheinen Thymus- und Testesgewicht und die Testosteronkonzentration im Serum unter der Kontrolle des H-2-Systems zu stehen (100). Es besteht ein Hinweis darauf, daß die Sensibilität der Zielorgane gegen Testosteron ebenfalls vom H-2-System kontrolliert wird (144).

2.) Die Konzentration von Cyclo-AMP in den Leberzellen von Mäusen wird ebenfalls vom H-2-System kontrolliert (143).
3.) Beim Menschen wurde ein Fall mit einer Verdoppelung der HLA-Spezifitäten (= vier Haplotypen statt zwei = 8 Antigene) beschrieben, der mit mehreren endokrinen Störungen einherging (38).
4.) In einer Großfamilie mit mehreren manifest diabetischen Patienten war die Insulinantwort auf Glucosegabe bei Probanden mit dem Diabetes-assoziierten Haplotyp niedriger als bei den übrigen gesunden Verwandten (213).
5.) Die Untersuchungen von L u d v i g s s o n et al. (130) haben eine Assoziation von Störungen der Betazellfunktion bei juvenilen Diabetikern (mit einer C-Peptidverminderung) und den HLA-Antigenen B8 und BW15 ergeben.

b) Mimikryhypothese

Eine Strukturähnlichkeit zwischen HLA-Antigenen und einem infektiösen Agens (Bakterien oder Viren) könnte das Immunsystem "täuschen", so daß keine adäquate Immunantwort zustande kommt. Diese Hypothese ist bisher noch nicht hinreichend untersucht. Immerhin konnten einige Autoren über eine Kreuzreaktion zwischen Strukturproteinen bestimmter Bakterien und Histokompatibilitätsantigenen berichten (27, 177, 96). Auch in diesem Fall müßte die Mimikryfähigkeit als dominantes Merkmal vererbt werden. Dies ist aus den schon oben genannten Gründen nicht sehr wahrscheinlich.

c) Modifizierungshypothese

Diese Hypothese kam durch die Erforschung zytotoxischer Reaktionen bei der lymphozytären Chorionmeningitis der Maus zustande (234) und wurde durch die Beobachtungen bei verschiedenen anderen Viruserkrankungen bestätigt (20, 116).

Bei der Maus ist die Empfänglichkeit für das LCM-Virus mit Antigenen des H-2-Systems assoziiert. Eine Infektion mit LCM-Viren stimuliert die kompetenten T-Zellen und führt so zur Lyse virusbefallener Zellen.
Über die Bedeutung des H-2 Komplexes bei dieser Immunantwort existieren zwei verschiedene Vorstellungen:
Der zur Lysierung nötige direkte Kontakt zwischen T-Zelle und Viruswirt wird durch Oberflächenantigene des H-2 Komplexes vermittelt. Die zweite Version trägt möglicherweise zur Erklärung sogen. Autoimmunphänomene bei. Sie besagt, daß durch Viren eine Modifizierung des Histokompatibilitätskomplexes der Wirtszelle hervorgerufen wird, die den T-Zellen als Signal "zum Angriff" dient. Ursachen einer solchen Modifizierung könnten entweder eine direkte virale Beeinflussung des H-2-Genoms oder eine Fehltransformierung von m-RNS sein.

6.1.5.2. Indirekte Beteiligung an der Pathogenese

Einiges deutet darauf hin, daß Histokompatibilitätsantigene nur indirekt an der Pathogenese von Erkrankungen mit immunologischem Hintergrund beteiligt sind. Eine mögliche Erklärung wäre eine HLA-abhängige, erhöhte Empfänglichkeit für eine bestimmte Erkrankung. Für diese Hypothese, die sich auch auf die vermutete Pathogenese des Diabetes mellitus anwenden läßt, sprechen die folgenden Beobachtungen:
Nicht selten ist ein bestimmter HLA-Phänotyp, z.B. B8, mit mehreren völlig unterschiedlichen Erkrankungen, z.B. chronisch aggressiver Hepatitis, Zöliakie und juvenilem Diabetes mellitus assoziiert. Sowohl aus Untersuchungen bei verschiedenen Tierspezies als auch beim Menschen (78, 88) ist bekannt, daß die Fähigkeit zur Immunreaktion auf zellulärem und humoralem Weg von Genen der Haupthistokompatibilitätssysteme kontrolliert wird. Studien am H-2-System der Maus haben zur Entdeckung sogen. Immunantwort-Gene geführt (142).

Beim Menschen wird die Region der Ir- (Immune response) Gene innerhalb der HLA-D-Region vermutet. Interessanterweise bestehen bei verschiedenen Erkrankungen wesentlich stärkere Assoziationen zu Antigenen des D-Locus als zu den übrigen bekannten HLA-Loci.
Es liegt natürlich nahe, eine Immunerkrankung als Folge einer mangelnden Abwehrreaktion (Immunantwort) gegen ein Antigen anzusehen. Vorausgesetzt, eine Immunantwort, z.B. auf Coxsackie B4-Viren, wird quantitativ und qualitativ von Ir-Genen kontrolliert, so verwundert es etwas, wenn ein Defekt,z.B. des paternalen Ir-Gens, nicht durch das gesunde Allel des maternalen Chromosoms ausgeglichen wird. Tatsächlich wurden Assoziationen des HLA-Systems mit Erkrankungen fast nur bei heterozygotem HLA-Genotyp beobachtet.
Der eigentliche Mechanismus der Kontrolle von Immunantworten durch Ir-Gene ist noch nicht geklärt. Folgende Möglichkeiten werden diskutiert:
a) In ihrer Molekülstruktur pathologisch veränderte Produkte oder auch nur ein Mangel an Ir-Genprodukten (z.B. Immunglobuline) führen zu einer Resistenzminderung im Infektionsfall.
b) Ein Überschuß an Ir-Genprodukten nach abgeklungener Infektion oder ein Ausfall eines Ir-Gensuppressors könnte die Entstehung eines Autoimmunphänomens begünstigen.
c) Pathologisch veränderte oder verminderte Ir-Genprodukte führen zu einer mangelnden Stimulation immunkompetenter B- und T-Zellen. Eine wirksame Bekämpfung des infektiösen Agens ist deshalb nicht gewährleistet.

6.2. Familienuntersuchung

Obwohl der exakte Mechanismus der Assoziation von HLA-Antigenen und diabetischen Stoffwechselstörungen noch nicht geklärt ist, besteht kaum ein Zweifel, daß die Empfänglich-

keit für den Diabetes mellitus als HLA-assoziiertes genetisches Merkmal vererbt wird. Diese Erkenntnis stützt sich vor allem auf Ergebnisse aus Familienstudien bei juvenilen Diabetikern.

6.2.1. Vergleich mit anderen Untersuchungen

Untersuchungen an Verwandten ersten Grades und bei ein- und zweieiigen Zwillingsgeschwistern von juvenilen Diabetikern haben gezeigt, daß der Diabetes mellitus mit HLA-Haplotypen segregiert (164b). Zwillingsstudien haben die Bedeutung zusätzlicher exogener Faktoren neben genetischen Faktoren bei der Pathogenese des Diabetes bestärkt (165). Eine Möglichkeit, die Bedeutung der HLA-Assoziation gegenüber exogenen Faktoren bei der Entstehung des Diabetes abzugrenzen, ist die Untersuchung der Glucosetoleranz bei genetisch prädisponierten Personen, z.B. Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern.

Angaben über die Häufigkeiten der Glucoseintoleranz bei Blutsverwandten von Diabetikern sind stets sehr vorsichtig zu bewerten. Unterschiedliche Ergebnisse kommen z.B. durch die unerschiedliche Auswahl der Probanden, durch die Methodik der verwendeten Belastungstests, unterschiedliche Festlegung von Normalbereichen und vor allem durch die meist fehlende Berücksichtigung der Abhängigkeit der Kohlenhydrattoleranz vom Lebensalter zustande.

In der vorliegenden Untersuchung fand sich bei 27.1 % der Verwandten ersten Grades von Patienten mit juvenilem Diabetes eine Verschlechterung der Glucosetoleranz nach OGTT. Der Prozentsatz der Personen mit Glucoseintoleranz lag in der Altersgruppe über 35 Jahre (Eltern) bei 33 % und war damit annähernd doppelt so hoch wie der Prozentsatz der Geschwister mit gestörter Glucoseutilisation (18%).

Der Gesamtprozentsatz von 27.1 % entspricht ungefähr den von K ö b b e r l i n g et al. beschriebenen Ergebnissen bei Verwandten ersten Grades von Altersdiabetikern (114). Im Vergleich mit einer Studie von S c h e r n t h a n e r (187) fällt auf, daß bei Anwendung einer i.v.-GTT der Prozentsatz der Glucoseintoleranz bei Geschwistern unter 35 Jahren und den getesteten Eltern praktisch gleich hoch ist (41% bzw. 42%). Der Gesamtprozentsatz bei Blutsverwandten lag in dieser Studie bei 35.3%. Diese Differenzen zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Studie und der Untersuchung der österreichischen Gruppe können durch die Anwendung verschiedener Methoden (oral und intravenös) beim Glucosetoleranztest bedingt sein, oder aber durch die unterschiedliche Anzahl der Probanden zustande kommen. In beiden Studien war das Probandenkollektiv für eine endgültige Angabe zu klein (85 Verwandte ersten Grades in der vorliegenden Studie und 36 Eltern und Geschwister in der zitierten Untersuchung). R o s e n b l o o m et al. (184) fanden bei ungefähr einem Drittel (58 von 180) der Geschwister von kindlichen Diabetikern ein abnormales Ergebnis eines oralen 2-Std.-Glucosetoleranztests. B r a u n s t e i n e r et al. konnten mittels eines Tolbutamidtests bei 14 von 21 Elternteilen von 11 Patienten eine latente diabetische Stoffwechsellage nachweisen (26). In der Regel scheint die Inzidenz der Glucoseintoleranz bei Anwendung der oralen Belastung niedriger zu sein als bei intravenöser Glucosegabe (siehe auch Untersuchungen von B u r k e h o l d e r et al. (32) und D e s c h a m p s et al. (63).

Der Prozentsatz manifest diabetischer Eltern und Geschwister von juvenilen (Manifestationsalter 0-29 Jahre) Diabetikern ist ungefähr gleich hoch. Verschiedene Familienanalysen (H a r r i s 1950 (93, 94), S t e i n b e r g und W i l d e r 1952 (200) und T h o m p s o n und W a t s o n 1952 (211) ergaben bei den Eltern einen Prozentanteil diabetischer Patienten zwischen 3.3% und 5% und bei den Geschwistern zwi-

schen 4.1% und 7.5%. Dagegen ist der Anteil diabetischer Eltern von Patienten mit einem Manifestationsalter über 29 Jahre etwa doppelt so hoch, nämlich 6.2% gegenüber 3.3% (93, 94) und 11.4 gegen 5.0%(200). Geht man von diesen Beobachtungen aus, so ist in ungefähr 20% aller Fälle mit Glucoseintoleranz bei Blutsverwandten von juvenilen Diabetikern mit der späteren Entwicklung eines manifesten Diabetes zu rechnen.

6.2.2. Kritik der angewandten Methodik

Bei der Diskussion und Beurteilung der Ergebnisse der Glucosebelastungsteste sind vor allem die folgenden Fragen zu berücksichtigen:

1. Welche der beiden Methoden (i.v. GTT oder OGTT) bietet die größere Treffsicherheit bezüglich der Beurteilung der Glucosetoleranz?

Diese Frage kann nicht eindeutig beantwortet werden. Der Vorteil der OGTT, die den physiologischen Verwertungsweg der Glucose besser widerspiegelt als die i.v. GTT, wird durch verschiedene unbeeinflußbare Faktoren beeinträchtigt. Hierzu gehören vor allem alle Erkrankungen des Verdauungstraktes und hormonelle Störungen, wie z.B. die Hyperthyreose. Ernährungsgewohnheiten spielen eine ebenso große Rolle wie das Lebensalter und die gewohnte körperliche Aktivität (107).

2. Ist die verwendete Methode ausreichend reproduzierbar oder handelt es sich um einen Zufallsbefund?

Diese Frage läßt sich mit einer Studie der "Diabetes Association of Greater Cleveland" (64) beantworten. Bei einer Untersuchung an 307.000 Bürgern wurde in 4.1% eine Glucoseintoleranz festgestellt (2-Std.-Wert über 139 mg% nach 75 g oral). Bei 65% von insgesamt 70% OGTT-positiven Probanden, die nach etwa fünf Jahren nachuntersucht wurden, fanden sich wiederum erhöhte Blutzuckerwerte, wobei die Zahl der positiven Personen in Korrelation zur Höhe des pathologischen

Blutzuckerwertes bei der Erstuntersuchung noch stark zugenommen hatte. Unabhängig vom Ausgangswert zeigte sich mit zunehmendem Lebensalter eine Zunahme der Inzidenz pathologischer OGTTs.
O l e f s k y et al. untersuchten die Schwankungsbreite der Ergebnisse eines oralen Glucosetoleranztests, der bei 31 "Normalpersonen" 48 Stunden nach der Erstuntersuchung wiederholt worden war (217). Die Gesamtresultate beider Tests, in denen neben der Glucose auch die Insulinantwort gemessen worden war, unterschieden sich nur unwesentlich. Eine Ausnahme bildeten die 60-Minuten-Werte, bei denen Schwankungen von mehr als 10% bei 22 Probanden und von mehr als 30% bei 6 Testpersonen gefunden wurden. Die Variabilität der Insulinantwort erwies sich als wesentlich größer.

Aus den angeführten Beobachtungen geht klar hervor, daß es sich bei den Ergebnissen des in dieser Studie durchgeführten Glucosetoleranztests wohl nicht um Zufallsbefunde handeln kann. Exogene Faktoren, die zu einer Veränderung der Ergebnisse hätte führen können, wurden durch entsprechende Vorbedingungen und anamnestische Erfassung ausgeschaltet oder weitgehend berücksichtigt. Eine Verlaufsstudie erscheint trotzdem angezeigt, da sich die Inzidenz pathologischer OGTTs mit zunehmendem Alter voraussichtlich noch weiter erhöhen würde.

Bei der Pathogenese des Diabetes mellitus sind zahlreiche Überlegungen angestellt worden, die eine qualitative oder quantitative Störung der Insulinsekretion betreffen. Entsprechende Untersuchungen an Geschwistern juveniler Diabetiker und insbesondere an Zwillingspaaren wurden in der Einleitung bereits diskutiert.
In der vorliegenden Studie fanden sich bei 54.1% der Blutsverwandten von juvenilen Diabetikern Störungen, d.h. Norm-

abweichungen der Insulinantwort während der oralen Glucosebelastung. Die Tatsache, daß der Prozentsatz an Geschwistern und an Eltern mit einer solchen Störung annähernd gleich hoch ist, während das Verhältnis bei der Glucoseintoleranz etwa 1 : 2 beträgt, spricht möglicherweise für eine Dissoziation von Glucoseintoleranz und Störungen der Insulinantwort. Diese Vermutung ist auch dann noch haltbar, wenn die Zahl der übergewichtigen Probanden, die meist höhere durchschnittliche Insulinwerte aufweisen als Normalgewichtige, berücksichtigt wird. Insgesamt hatten 11 von 46 Personen mit gestörter Insulinantwort ein Übergewicht von mehr als 20%, bezogen auf den Sollwert nach B r o c a . Nur 5 von 22 Testpersonen mit einer abnorm erhöhten Insulinantwort waren übergewichtig. Unter diesen übergewichtigen Probanden befand sich kein einziges Kind.

Vom juvenilen insulinpflichtigen Diabetes mellitus ist bekannt, daß die Glucoseintoleranz durch ein andauerndes absolutes oder relatives Defizit an endogenem Insulin hervorgerufen wird. Der Altersdiabetes zeichnet sich zumindest bei Beginn der Erkrankung durch eine mangelnde Verfügbarkeit des endogenen Insulins aus, das jedoch in genügender Menge produziert wird (237). Als Ursache nimmt man eine verminderte Sekretionsleistung der Beta-Zellen an. Bei dem Versuch, die getesteten Blutsverwandten der Patienten entsprechend ihrer Insulinantwort aufzuteilen, fanden sich insgesamt nur zwei Probanden mit einer unter die vorgegebene Norm erniedrigten Insulinantwort. Beide hatten gleichzeitig eine Glucoseintoleranz. Nur hier konnte daher aufgrund der OGTT eine latente Form des klassischen juvenilen Diabetes mellitus angenommen werden. Interessanterweise handelte es sich dabei in einem Fall um die 49jährige Mutter eines Patienten.
In allen anderen Fällen variierten die gefundenen Störungen der Insulinantwort zwischen erhöhtem und verzögertem Sekretionstyp, wobei sich bei 17 Probanden gleichzeitig eine verminderte Glucosetoleranz fand. Daraus muß geschlossen

werden, daß es unter den Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern keinen festgelegten Phänotyp der Insulinantwort gibt. Eine Durchführung von Langzeitstudien mit Wiederholung der Tests erscheint daher dringend erforderlich, da nur so die Wertigkeit der beschriebenen Störungen für das Risiko, an Diabetes zu erkranken, erkundet werden kann.

6.2.3. Segregation von Störungen der Glukosetoleranz und Insulinantwort mit HLA-Antigenen bzw. -Haplotypen in den Familien von juvenilen Diabetikern

Hauptziel der vorliegenden Studie ist es zu klären, ob die bei juvenilen Diabetikern vorgefundenen HLA-Antigene bzw. Haplotypen gemeinsam mit den bei ihren Blutsverwandten beobachteten Störungen nach OGTT segregieren, d.h., ob Blutsverwandte, die mit dem Patienten einen identischen Haplotypen haben, als sogen. Prädiabetiker zu betrachten sind. Die Bezeichnung "Prädiabetiker" engt den Begriff des potentiellen Diabetikers ein. Aufgrund statistischer Untersuchungen sind z.B. eineiige Zwillinge von Diabetikern als Prädiabetiker, d.h. Personen mit nahezu 100prozentigem Erkrankungsrisiko anzusehen.

L u d w i g et al. (131) hatten unter Verwendung einer i.v.-GTT für Geschwister (unter 35 J.) von juvenilen Diabetikern, die HLA-B8 positiv waren, ein ungefähr dreimal größeres, und für BW15-positive Geschwister ein gegenüber Nichtträgern ungefähr fünfmal größeres Risiko der Entwicklung einer Glucoseintoleranz ermittelt. Trotz des erhöhten relativen Risikos hielten sie eine Bestimmung der HLA-Merkmale für die Frühdiagnose des Diabetes mellitus im Einzelfall nicht für angezeigt.
In der vorliegenden Studie hatten von sieben Geschwistern mit einer Glucoseintoleranz drei beide HLA-Haplotypen mit

dem Patienten gemeinsam. Bei einer codominanten Vererbung der Haplotypen sollte bei den Kindern eine Haplotypenidentität in 25% der Fälle zu erwarten sein. Unter den sechs Geschwistern mit Störungen der Insulinsekretion wiesen sechs Kinder (von dreizehn) identische Haplotypmuster des Patienten auf. Die haplotypisch-identischen Probanden zeigten in vier Fällen bei OGTT erhöhte Insulinwerte, und je einmal eine erniedrigte bzw. verzögerte Insulinantwort. In einer Familie mit vier Kindern wurde bei zwei Geschwistern mit einer erhöhten Insulinantwort ein identisches HLA-Muster gefunden, das aber nur einen Haplotypen des Patienten enthielt. Diese Ergebnisse korrelieren gut mit den Beobachtungen von C u d w o r t h et al. (58) und S c h e r n t h a n e r et al. (187), die ebenfalls eine unerwartet hohe Frequenz haplotypisch-identischer Geschwister bei juvenilen Diabetikern festgestellt haben.

Die Segregationsanalyse bei den getesteten Familien erwies sich aufgrund der relativ kleinen Anzahl als nicht sehr ergiebig. Immerhin konnte fast in allen informativ verwertbaren Familien eine positive Segregation von HLA-Haplotypen mit Störungen der Glucosetoleranz und/oder Insulinantwort nach OGTT nachgewiesen werden. Nur in zwei Fällen mit gestörter Insulinsekretion sprach das Ergebnis eindeutig gegen eine gemeinsame Segregation.
Unter zehn Haplotypen, für die eine Segregation mit pathologischen OGTT-Ergebnissen nachgewiesen wurde, befanden sich vier BW15 enthaltende HLA-Paarungen und zwei Paare mit B8. Dabei fällt auf, daß die nachgewiesenen Störungen der Glucose- bzw. Insulinantwort unerwartet selten mit B8-Haplotypen segregierten, wenn man die hohe Frequenz des Phänotypen B8 (42.4%) bei den HLA-typisierten Patienten betrachtet. Die Segregationshäufigkeit mit BW15 enthaltenden Haplotypen scheint dagegen eher höher

als erwartet. Ausgehend von der Phänotypfrequenz wäre hier mit einer Segregation in ungefähr einem Drittel der Fälle zu rechnen gewesen.

Was die Ergebnisse der Segregationsanalyse in den Familien der Patienten anging, versprach die Untersuchung der Assoziation von HLA-Antigenen mit dem pathologischen oder normalen Verlauf der OGTT bei den Blutsverwandten weiteren Aufschluß. Und tatsächlich bestätigte sich, was die Segregationsanalyse schon angedeutet hatte: Weder Störungen der Glucosetoleranz noch Normabweichungen der Insulinantwort waren mit B8 assoziiert. Im Gegenteil schien es, als wäre die Glucoseintoleranz mit B8 deutlich negativ assoziiert. Bei BW15 hingegen fand sich für Glucoseutilisationsstörungen und Störungen der Insulinantwort eine signifikant positive Assoziation.

Eine Unterteilung der B8 und BW15 assoziierten Fälle in verschiedene Gruppen (Normalgewichtige, Übergewichtige und Personen unter 35 Jahre; Personen über 35 Jahre) ergab keine signifikanten Inzidenzunterschiede. Daher konnte angenommen werden, daß sich die Assoziation von Störungen der OGTT mit HLA-Antigenen von exogenen Faktoren weitgehend unabhängig verhielt.

Eine Interpretation der Ergebnisse der Familienanalyse hat zur Zeit nur einen spekulativen Charakter. Prospektive Studien und wiederholte Nachuntersuchungen der getesteten Familien könnten weiteren Aufschluß ergeben.

7. Zusammenfassung

Eine signifikante Frequenzerhöhung der HLA-Antigene B8 und BW15 bei juvenilen Diabetikern wurde bestätigt. Die Frequenzen der anderen A- und B-Locus-Spezifitäten stimmten mit den Erwartungswerten aus der Vergleichspopulation überein, oder waren infolge des Kopplungsungleichgewichtes nicht signifikant verschoben. Eine Segregation von HLA-Haplotypen mit Störungen der Glucose- und/oder Insulinantwort nach oraler Belastung bei Verwandten ersten Grades von juvenilen Diabetikern kann als gesichert gelten. Die Analyse der OGTT-Ergebnisse hat gezeigt, daß diese Störungen heterogener Natur sind. Trotzdem besteht kein Zweifel, daß Blutsverwandte von Diabetikern, die mit dem Patienten einen HLA-Haplotyp gemeinsam haben, häufiger als andere Störungen der Kohlenhydrat-Stoffwechselregulation aufweisen. Der Wert einer Früherkennung des erhöhten Erkrankungsrisikos durch HLA-Typisierung und Glucosebelastungstests kann nur durch eine Fortsetzung der vorliegenden Studie in größerem Umfang bewiesen werden. Beim derzeitigen Stand der Untersuchung bleibt offen, ob das Risiko bei Familienmitgliedern mit Diabetes-assoziierten HLA-Haplotypen oder Glucoseintoleranz für eine Manifestation diabetischer Stoffwechselstörungen wirklich höher liegt als allgemein für Blutsverwandte von juvenilen Diabetikern angenommen wird. Ebensowenig läßt sich vorhersagen, um welchen Typ von Diabetes es sich dabei handeln wird. Ein einheitlicher HLA-assoziierter Phänotyp des potentiellen Diabetes kann deshalb nicht definiert werden.

In der vorliegenden Studie konnte die Heterogenität der HLA-Diabetes-Assoziation gezeigt werden. B8 scheint bei den Blutsverwandten keine besondere Rolle zu spielen, während BW15 häufig mit Störungen der Glucosetoleranz und Insulinantwort vergesellschaftet ist.

Dies führt zu der Vermutung, daß die Assoziation des Dia-

betes mit B8 und BW15 unterschiedliche genetische Hintergründe aufweisen könnte. Die Familiarität der BW15-Assoziation mit Störungen der Glucoseverwertung spricht mehr für eine unmittelbare Störung der Stoffwechselregulation, die möglicherweise im HLA-Genom festgelegt ist und deshalb vererbt wird. Als Erklärung bietet sich hier z.B. die oben beschriebene Ligand/Rezeptor-Hypothese an. Bei der Assoziation des Antigens B8 mit der manifesten diabetischen Stoffwechselstörung scheint dagegen eine erhöhte Empfänglichkeit für diabetogene Agentien oder Autoimmunphänomene vorzuliegen, die möglicherweise durch Störungen der HLA-abhängigen Immunantwort hervorgerufen wird.

Eine exakte Untersuchung biochemischer und immunologischer Phänomene bei frischen Diabetesfällen und prospektive Untersuchungen von Blutsverwandten juveniler Diabetiker könnten wesentlich zur Erklärung der diskutierten Zusammenhänge beitragen. Die vorliegende Studie ist in diesem Sinne als Pilotstudie anzusehen, die den hohen Aufwand solcher Untersuchungen in der Zukunft rechtfertigt.

Literaturverzeichnis

1 Aho, K., Akvonen, P., Lassus, A., Silvers, K., Trilikainen, A.: HLA-antigen and reactive arthritis
Lancet 2, p.157 (1973)

2 Albert, E.D., Scholz, S., Bertrams, J., Ewald, R.W., Westphal, E., Ratschko, K.-W., Spielmann, W., Seidl, S.: Representative HLA phenotype and haplotype frequencies of the German population
Z. f. Immunitätsforschung (1975)

3 Amiel, J.L.: Study of leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease
In: Histocompatibility Testing (Munksgaard, Copenhagen) Curtoni, E.S., Mattiuz, P.L., Tosi, M.R. (eds.)
p.79 (1967)

4 Amiel, J.L.: Study of the leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease
In: Histocompatibility Testing (Munksgaard, Copenhagen) Curtoni, E.S., Mattiuz, P.L., Tosi, M.R. (eds.)
p.79 (1967)

5 Amiel, J.L., Lebovici, S.: Choriocarcinoma and the HL-A 2 antigen
Rev. Eur. Etudes Clin. Biol. 15, p.191 (1970)

6 Bagshawe, K.D., Lawler, S.D.: The HL-A and ABO systems and choriocarcinoma
Lancet 2, p.1152 (1971)

7 Balner, H.: Genetic regions controlling immune responsiveness in primates
Transplant. Proc. Vol IX, No 1 (March 1977)

8 Barbosa, J.H., Noreen, H., Goetz, F., Simmons, R., Najarian, J., Yunis, E.Y.: Juvenile diabetes and viruses
Lancet 1, p.371 (1976)

9 Barbosa, J.H., Noreen, H., Goetz, F.C., Simmons, R., Deleiva, A., Najarian, J., Yunis, E.J.: Histocompatibility (HLA) antigens and diabetic microangiopathy
Tissue Antigens 7, pp.283-88 (1976)

10 Barrai, J., Cann, H.M.: Segregation analysis of juvenile diabetes mellitus
J. Med. Genet. 2, p.8 (1965)

11 Barta, L., Simon, S.: Role of HLA B8 and BW15 antigens in diabetic children
N. Engl. J. Med. 296, p.397 (1977)

12 Bastonie, P.A.: Immunity, autoimmunity and diabetes.
In: Diabetes VIIIth Congress of the International Diabetes Federation
Malaiss, W.J., Pirart, J. (eds.)
Excerpta Medica (Amsterdam), p.3 (1974)

13 Benacerraf, B., McDevitt, H.O.: Histocompatibility-linked immune response genes
Science 175, p.273 (1972)

14 Benacerraf, B., Kapp, J.A., Debré, P., Pierce, C.W., De la Croix, F.: Stimulation of specific suppressor T-cells in genetic non-responder mice by linear random copolymers of L-aminoacids
Transplant. Rev. 26, p.26 (1975)

15a Benacerraf, B., Katz, D.H.: Histocompatibility-linked immune response genes
Adv. Cancer Res. 21, p.121 (1975)

15b Benacerraf, B.: Role of Major Histocompatibility complex in Genetic Regulation of immunologic Responsiveners
Transplant. Proc. Vol IX, No.1 (1977)

16 Bendixen, G., Soborg, M.: A leukocyte migration technique for in vitro detection of cellular (delayed type) hypersensitivitiy
Dan. Med. Bull. 16, p.1 (1969)

17 Bertrams, J., Kuvert, E., Bohune, W., Reis, H.E. et al.: HL-A antigens in Hodgkin's disease and multiple myeloma
Tissue Antigens 2, pp.41-46 (1972)

18 Bertrams, J., Jansen, F.K., Grüneklee, D., Reis, H.E., Drost, H., Beyer, J., Gries, F.A., Kuvert, E.: HLA antigens and immunoresponsiveness to insulin in insulin-dependent diabetes mellitus
Tissue Antigens 8, pp.13-19 (1976)

19 Bitter, T., Mottironi, W.D., Terasaki, P.I.: HL-A antigens associated with lupus erythematosus
N. Engl. J. Med. 286, pp.435-36 (1972)

20 Blanden, R.V., Doherty, P.C., Dunlop, M.B.C., Gardner, I.D., Zinkernagel, R.M., David, C.S.: Genes required for cytotoxicity against virus-infected-target-cells in K-and D-regions of H-2 complex
Nature (Lond.) 254, pp.269-70 (1975)

21 Blank, K.J., Freedman, H.A., Lilly, F.: T-lymphocyte response to friend viruse-induced tumour cell-lines in mice of strains congenic at H-2
Nature 260, p.250 (Lond.) (1976)

22 Bloom, A., Hayes, R.M., Gamble, D.R.: Register of newly diagnosed diabetic children
Brit. Med. J. 3, pp.580-83 (1975)

22 Bloom, A., Hayea, T.M., Gamble, D.R.: Register of newly diagnosed diabetic children
Brit. Med. J. 3, p.580 (1975)

23 Bode, H.H., Dorf, M.E., Forbes, A.P.: Familial lymphocytic thyroiditis: analysis of linkage with histocompatibility and blood groups
J. Endocrin. Metab. 37, pp.692-97 (1973)

24 Botazzo, G.F., Florin-Christensen, A., Doniach, D.: Islet-cell anti-bodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies
Lancet 2, p.1279 (1974)

25 Boyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow
Scand. J. Clin. Lab. Invest. (Suppl. 97) p.21 (1968)

26 Braunsteiner, H., Hansen, W., Jung, A., Sailer, S.: Latent diabetes mellitus in the parents of juvenile diabetics
Dtsch. Med. Wo.schr. 91, p.750 (1966)

27 Brent, L., Medawar, P.B., Ruskiewitz, M.: Serological methods in the study of transplantation antigens
Brit. J.Exper. Pathol. 42, pp.464-77 (1961)

28 Brewerton, D.A., Caffrey, M., Hart, F.D., Jarmes, D.C.O., Nichols, A., Sturrock, R.D.: Ankylosing spondylitis and HL-A 27
Lancet 1, pp.904-07 (1973)

29 Brewerton, D.A., Caffrey, M., Nichols, A., Walters, D., Jarmes, D.C.O.: Reiter's disease and HL-A 27
Lancet 2, pp.996-98 (1973)

30 Burch, G.E., Tsui, C.Y., Harb, J.M., Colcolough, H.L.: Pathologic findings in the pancreas of mice infected with Coxsackie virus B4
Archs. intern. Med. 128, p.40 (1971)

31 Burch, G.E., Tsui, C.Y., Harb, J.M.: Pancreatic islet cell-damage in mice produced by Coxsackie B1 and encephalomyocarditis virus
Experentia 28/3, p.310 (1972)

56 Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: HL-A antigens and diabetes mellitus
Lancet 2, p.1153 (1974)

57 Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: HL-A system and diabetes mellitus
Diabetes 24, p.345 (1975)

58 Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: Evidence for HL-A linked genes in juvenile diabetes mellitus
Brit. Med. J. 3, p.133 (1975)

59 Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: Evidence for HL-A linked genes in juvenile diabetes mellitus
Brit. Med. J. 3, pp. 133-135 (1975)

60 Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: Genetic suceptibility in diabetes mellitus: Analysis of the HLA association
Brit. Med. J. 2, pp.846-48 (1976)

61 Cudworth, A.G., White, G.B.B., Woodrow, J.C., Gamble, D.R., Lendrum, R., Bloom, A.: Aetiology of juvenile-onset diabetes: A prospective study
Lancet 1(Feb. 19), pp.385-88 (1977)

62 Debré, P., Waltenbaugh, C., Dorf, M., Benacerraf, B.: Genetic control of specific immune suppression
J. Exp. Med. 144, p.272 (1976)

63 Deschamps, I., Lestradet, H.: L'epreuve d'hyperglycemie provoquée par voie buccale chez les frères et soeurs d'enfants diabetiques
Arch. franc. Pediat. 25, p.761 (1968)

64 Diabetes Association of Greater Cleveland: Community screening for Diabetes by Blood Glucose Measurement. Results of a five-year Experience
Diabetes 25, pp.1110-17 (1976)

65 Dick, F.R., Fortunay, I., Tehologides, A., Greally, J., Wood, N., Yunis, E.J.: HL-A and lymphoid tumors
Cancer Res. 32, p.2608 (1972)

66 Dippe, S.E., Bennett, P.H., Miller, M., Maynard, J.E., Berquist, K.R.: Lack of causal association between Coxsackie B4 virus and diabetes
Lancet 1, p.1314 (1975)

67 Doherty, P.C., Blanden, R.V., Zinkernagel, R.M.: Specifity of virus-immune effector T-cells for H-2 K or H-2 D compatible interactions: implications for H-antigen diversity
Transplant. Rev. 29, p.89 (1976)

68 Ellenberg, M., Rifkin, H. (eds.): The genetics of diabetes mellitus In: Diabetes mellitus, theory and practice
Mc Graw Hill (New York) (1970)

69 Erb, P., Feldman, M.: The role of macrophages in the generation of T-helper cells. II. The genetic control of the macrophage-T-cell interaction for helper cell induction with soluble antigens
J. Exp. Med. 142, p.460 (1975)

70 Fajans, S.S., Sussman, K.E.: Genetic considerations in diabetes mellitus. In: Diabetes mellitus: Diagnosis and treatment, Vol. III
Amer. Diab. Assoc. (New York) (1971)

71 Falk, J., Osoba, D.: HL-A antigens and survival in Hodgkin's disease
Lancet 2, p.1118 (1971)

72 Finkelstein, S., Zeller, E., Walford, R.L.: No Relation between HL-A and juvenile diabetes
Tissue Antigens 2, pp. 74-77 (1972)

73 Fisher, R.A.: Statistical methods for research workers
Oliver and Boyd (Edinburgh and London) (1954)

74 Forbes, J.F., Morris, P.J.: Leukocyte antigens in Hodgkin's disease
Lancet 2, p.849 (1970

75 Forbes, J.F., Morris, P.J.: Transplantation antigens and malignant lymphomas in man: follicular lymphoma, reticulum cell sarcoma and lymphosarcoma
Tissue Antigens 1, p.265 (1971)

76 Forbes, J.F., Morris, P.J.: Analysis of HL-A antigens in patients with Hodgkin's disease and their families
J. Clin. Invest. 51, p.1156 (1972)

77 Fu, S.M., Kunkel, H.C., Brusman, H.P., Allen, F.H., Fotino, M.: Evidence for linkage between HL-A histocompatibility genes and those involved in the synthesis of the second component of complement
J. Exp. Med. 140, p.1108 (1974)

78 Galbraith, R.M., Williams, R., Pattison, J., Kennedy, L.A., Eddlestone, A.L.W.F., Webster, A.D.B., Doniach, D., Batchelor, J.R.: Enhanced antibody responses in active chronic hepatitis: Relation of HLA B8 and HLA B12 and portosystemic shunting
Lancet 1, pp.930-34 (1976)

79 Gamble, D.R., Taylor, K.W.: Viral antibodies in diabetes mellitus
Brit. Med. J. 3, p.627 (1969)

80 Gamble, D.R., Taylor, K.W., Cumming, H.: Coxsackie viruses and diabetes mellitus
Brit. Med. J. 4, p.260 (1973)

81 Gamble, D.R., Taylor, K.W.: Coxsackie virus and diabetes mellitus
Brit. Med. J. 4, pp.260-62 (1973)

82 Garovoy, M.R., Carpenter, C.B., Myrberg, S.M., Gleason, R.E., Funk, I.B., Flood, T.M., Craighead, J.E.: Increased incidence of HL-A B8 in juvenile diabetes mellitus
Transplant. Proc. 9 (Suppl. 1), pp. 177-79 (1977)

83 Gazit, E., Sartani, A., Mizrachi, Y., Ravid, M.: HLA antigens in Jewish patients with juvenile diabetes mellitus
Diabete Metab. 3 (1), pp.55-58 (1977)

84 Gepts, W.: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus
Diabetes 14, p.619 (1965)

85 Germain, R.N., Dorf, M.E., Benacerraf, B.: Inhibition of T-lymphocyte-mediated tumour-specific lysis by alloantisera directed against the H-2 serological specifities of the tumour
J. Exp. Med. 142, p.1023 (1975)

86 Gomard, E., Duprez, V., Henin, Y., Levy, J.P.: H-2 region product as determinant in immune cytolysis of syngeneic tumour cells by anti-MSV T-lymphocytes
Nature 260, p.707 (Lond.) (1976)

87 Goodman, M.J., Chung, C.S.: Diabetes mellitus: discrimination between single locus and multifactorial models of inheritance
Clin. Genet. 8, p.66 (1975)

88 Greenberg, E.J., Grey, E.D., Yunis, E.J.: Association of HL-A 5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens
J. Exp. Med. 141, pp.935-43 (1975)

89 Green-Hansen, A., Degnbol, B.: Prevalence of diabetes mellitus among relatives of 187 patients with juvenile diabetes
(Abstract)
Diabetologia 12, p.396 (1976)

90 Grumet, F.C., Conkell, A., Bodmer, J.G., Bodmer, W.F., McDevitt, H.O.: Histocompatibility (HL-A) antigens associated with systemic lupus erythematosus
N. Engl. J. Med. 285, pp.193-96 (1971)

91 Hafezi, V., Zeidner, D., Kotoyan, M., Mac Millan, D.R.: Seasonal variation in the onset of juvenile diabetes mellitus
Clin. Res. 24, p.66 (Abstract) (1976)

92 Haldane, J.B.S.: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies
Am. Hum. Genet. 20, pp.309-11 (1955)

93 Harris, H.: Incidence of parental consanguinity in diabetes mellitus
Ann.Eugen (Lond.) 14, p.293 (1949)

94 Harris, H.: Familial distribution of diabetes: a study of relatives of 1241 diabetic propositi
Ann.Eugen (Lond.) 15, p.95 (1950)

95 Harris, H.: Familial distribution of diabetes: a study of relatives of 1241 diabetic propositi
Ann. Eugen (Lond.) 15, p.95 (1950)

96 Hirata, A.A., Terasaki, P.I.: Cross-reaction between streptococcal M proteins and human transplantation antigens
Science 168, pp.1095-96 (1970)

97 Irvine, W.J., Clarke, B.F., Scarth, L., Cullin, L.J.P.: Thyroid and gastric immunity in patients with diabetes mellitus
Lancet 2, p.163 (1970)

98 Irvine, W.J., Gray, R.S., McCallum, C.J.: Pancreatic islet-cell antibody as a marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes
Lancet 2, p.1097 (1976)

99 Irvine, W.J., Gray, R.S., McCallum, C.J.: Pancreatic islet-cell antibody as a marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes
Lancet 2, pp.1097-1102 (1976)

100 Ivanyi, P., Foreyt, J.: In: Present problems in Haematology
J. Libansky and L. Donner (eds.), p.143 (Prague) (1974)

101 Ivaskova, E., Jakoubkova, J., Zavadil, M., Schneid, V., Koldovsky, P., Ivanyi, P.: HL-A antigens and choriocarcinoma and hydatiform mole
Cancer Res. 27, p.1201 (1967)

102 Jansen, F.K., Kiesel, U.: L'activation de cellules T en fonction du locus H-2 de la souris par des determinants d'insuline chimiquement characterises
Ann. Inst. Pasteur 126, pp.86-87 (1975)

103 Jansen, F., Bertrams, J., Grüneklee, D., Drost, H., Reis, H., Bever, H., Kuwert, E., Gries, F., Altrock, E.: Genetic association of insulin antibody production with histocompatibility (HL-A) antigens in diabetics
Diabetologia 11, pp.352-53 (1975)

104 Jeannet, M., Maguin, C.: HL-A antigens in malignant diseases
Transplant. Proc. 3, p.1301 (1971)

105
106 Jörgensen, G.: Zur Genetik des idiopathischen Diabetes mellitus
Dt. Med. Wschr. 17, p.609 (1966)

107 Joslin, E.P., Root, H.F., White, P., Marble, A.: In: The treatment of diabetes mellitus
H. Kimpton (ed.) p.631 (1959)

108 Junker, K., Egeberg, J.C., Kromann, H., Nerup, J.: The pathology of the islet of Langerhans in early juvenile diabetes mellitus
Diabetologia 11, p.354 (1975)

109 Katz, D.H., Hamaoka, T., Dorf, M.E., Benacerraf, B.: Cell interactions between histocompatible T and B lymphocytes. The H-2 gene complex determines successful physiologic lymphocyte interactions
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, p.2624 (1973)

110 Keck, K.: Ir-gene control of immunogenicity of insulin and A-chain loop as a carrier determinant
Nature (Lond.) 254, pp.78-79 (1975)

111 Keen, H.: Paper read to Banting Memorial Lecture
Brit. Diab. Ass. (Oxford) (1957)

112 Kissmeyer-Nielsen, F., Jensen, K.B., Ferrara, G.B., Kjerbye, K.E., Svejgaard, A.: HL-A phenotypes in Hodgkin's disease. Preliminary report
Transplant. Proc. 3, p.1287 (1971)

113 Kimmel, J., Pollock, H.G.: Studies of human insulin from nondiabetic and diabetic pancreas
Diabetes 16, p.687 (1967)

114 Köbberling, J., Appels, A., Creutzfeldt, W.: Glucose tolerance test in 727 first degree relatives of maturity onset diabetics
Ger. Med. Mtshft. 14, p.290 (1969)

115 Koivisto, V.A., Kuitunen, P., Tilikainen, A., Akerblom, H.K.: HLA antigens especially B8 and BW15 in patients with juvenile diabetes mellitus coeliac disease and both of these diseases (proceedings)
Diabete Metab. 2, p.161 (1976)

116 Koszinowski, U., Erd, M.: Lysis mediated by T-cells and restriction by H-2 antigen of target cells infected with vaccinia virus
Nature (Lond.) 255, pp.552-54 (1975)

117 Kourilsky, F.M., Dausset, J., Feingold, N., Duprey, J.M., Bernard, J.: Leukocyte groups and acute leukemia
J. Nat. Cancer Inst. 41, pp.81-87 (1968)

118 Krain, L.S., Newcomer, K.D., Terasaki, P.I.: HL-A antigens in psoriasis
N. Engl. J. Med. 288, p.1245 (1973)

119 Krain, L.S., Newcomer, V.D., Terasaki, P.I.: HL-A antigens in psoriasis
N. Engl. J. Med. 288, p.1245 (1973)

120 Kromann, H., Faber Vestergard, B., Nerup, J.: Glucose intolerance in mice infected with encephalomyocarditis virus
Acta Endocrin. (Copenhagen) 76, p.670 (1974)

121 Le Compte, P.M.: "Insulinitis" in early juvenile diabetes
Arch. Path. 66, p.450 (1958)

122 Lendrum, R., Walker, G., Gamble, D.R.: Islet-cell antibodies in juvenile diabetes mellitus of recent onset
Lancet 1, p.880 (1975)

123 Lendrum, R., Walker, J.G., Cudworth, A.G., Woodrow, J.C., Gamble, D.R.: HL-A linked genes and islet-cell antibodies in diabetes mellitus
Brit. Med. J. 1, p.1565 (1976)

124 Lendrum, R., Walker, G., Cudworth, A.G., Woodrow, J.C., Gamble, D.R.: HLA-linked genes and islet-cell antibodies in diabetes mellitus
Brit. Med. J. 1, p.1565 (1976)

125 Lendrum, R., Walker, G., Cudworth, A.G., Woodrow, J.C., Gamble, D.R.: HLA linked genes and islet-cell antibodies in diabetes mellitus
Brit. Med. J. 1, pp. 1565-67 (1976)

126 Lestradet, H., Battistelli, F., Ledoux, A., Combier, E.: L'hérédité du Diabète Sucré: Etude à Partir de 1000 Familles d'Enfants Diabétiques et de 1000 Familles Témoins
Nouv. Press Med. 1, p.2543 (1972)

127 Levine, B.B., Stumber, R.H., Fotino, M.: Ragweed hay fever: Genetic control and linkage to HL-A haplotypes
Science 178, pp.1201-03 (1972)

128 Lewis, J.L.jr., Terasaki, P.I.: HL-A leukocyte antigen studies in women with gestational trophoblastic neoplasms
Am. J. Obstet. Gynecol. 11, p.547 (1971)

129 Lilly, F., Boyse, E.A., Old, L.J.: Genetic basis of susceptibility to viral leukemogenesis
Lancet 2, p.1207 (1964)

130 Ludvigsson, J., Safvenberg, J., Heeding, L.: HLA types, C-peptide and insulin antibodies in juvenile diabetes
Diabetologia 13, pp.13-17 (1977)

131 Ludwig, H., Mayr, W.R., Schernthaner, G.: Glucose-tolerance-tests in HLA-typed relatives of patients with juvenile onset diabetes
Lancet 2, p.1152 (1975)

132 Ludwig, H., Schernthaner, G., Mayr, W.R.: Is HLA B 7 a marker associated with a protective geneto juvenile-onset diabetes mellitus?
N. Engl. J. Med. 294, p.1066 (1976)

133 Ludwig, H., Mayr, W., Schernthaner, G.: The importance of HLA B8, BW15, CW3 and B7 in juvenile onset diabetes mellitus (proceedings)
Diabete Metab. 2 (3), p.157 (1976)

134 Ludwig, H., Schernthaner, G., Mayr, W.: The importance of HLA genes to susceptibility in the development of juvenile diabetes mellitus: A study 93 patients and 68 first degree blood relations
Diabet. Metab. 3 (1), pp.43-48 (1977)

135 Mac Cuish, A.C., Jordan, J., Campbell, C.J., Duncan, L.J.P., Irvine, W.J.: Cellmediated immunity to human pancreas in diabetes mellitus
Diabetes 23, p.693 (1974)

136 Mac Cuish, A.C., Barnes, E.W., Irvine, W.J.: Antibodies to pancreatic islet-cells in insulin-dependent diabetics with coexistant autoimmune disease
Lancet 2, p.1529 (1974)

137 Mac Cuish, A.C., Barnes, E.W., Irvine, W.J., Duncan, L.J.P.: Antibodies to pancreatic islet-cells in insulin-dependent diabetes with coexistant autoimmune disease
Lancet 2, p.1529 (1974)

138 Mac Cuish, A.C., Jordan, J., Campbell, C.J., Duncan, L.J.P., Irvine, W.J.: Cell-mediated immunity in diabetes mellitus
Diabetes 24, p.36 (1975)

139 Marsh, D.G., Bias, W.B., Hsu, S.H.: Association of the HL-A 7 cross-reacting group with a specific reagenic antibody response in allergic man
Science 179, pp.691-93 (1973)

140 Martz, E., Benacerraf, B.: Lack of association between carcinoma of the breast and HL-A specifities
Tissue Antigens 3, p.30 (1973)

141 Mayr, W. et al. Data submitted to the Registry of HLA and disease of Copenhagen (1976)

142 McDevitt, H.O., Sela, M.: Genetic control of the antibody response. I. Demonstration of determinant specific differences in response to synthetic polypeptide antigens in two strains of inbred mice
J. Exp. Med. 122, p.517 (1965)

143 Meruelo, D., Edidin, M.: Association of mouse liver adenosine 3,5-cyclic monophosphate (cyclic AMP) levels with Histocompatibility-2 genotype
Proc. nat. Acad. Scienc. USA 72 (1975), pp.2644-48

144 Mickova, M., Ivanyi, P.: Influence of the H-2 system on the sensitivity of vesicular glands to testosterone hormone
Folia biol. (Praha) 21, pp. 435-36 (1975)

145 Miller, J.F.A.P., Vadas, M.A., Whitelaw, A., Gamble, J.: H-2 gene complex restricts transfer of delayed-type hypersensitivity
Proc. Nat. Acad. Sciienc. USA 72, p.5095 (1975)

146 Mimura, G., Miyao, S.: Heredity and constitution of diabetes mellitus
Bull. Res. Inst. Diabetic Med. (Kumamoto Univ.) 12, p.1 (1962)

147 Morgenson, B., Kissmeyer-Nielsen, F., Hauge, M.: Histocompatibility antigens on the HL-A locus in gestational choriocarcinoma
Transplant. Proc. 1, p.76 (1971)

148 Morris, P.J., Forbes, J.F.: HL-A in follicular lymphoma, reticulum cell sarcoma, lymphosarcoma and infectious mononucleosis
Transplant. Proc. 3, p.1321 (1971)

149 Morris, P.J., Forbes, J.F.: HL-A in follicular lymphoma, reticulum cell sarcoma, lymphosarcoma and infectious mononucleosis
Transplant. Proc. 3, pp.1315-16 (1971)

150 Morris, P.J., Pietsch, M.C.: A possible association between paralytic poliomyelitis and multiple sclerosis
Lancet 2, p.847 (1973)

151 Morris, P.J., Irvine, W.J., Gray, R.S., Duncan, L.J., Vaughan, A., McCallum, F.J., Campbell, C.J., Farquhar, J.W.: HLA and pancreatic islet cell antibodies in diabetes
Lancet 2, pp.652-53 (1976)

152 Morton, N.E.: Segregation analysis in human genetics
Science 127, p.79 (1958)

153 Morton, N.E., Lew, R.: Complex segregation analysis
Amer. J. Hum. Genet. 23, p.602 (1971)

154 Murphy, D.B., Herzenberg, L.A., Okumura, K., Herzenberg, Leo.A., McDevitt, H.O.: A new I subregion (I-J) marked by a locus (Ia-4) controlling surface determinants on suppressor T lymphocytes
J. Exp. Med. 144, p.699 (1976)

155 Nandi, S.: The H-2 locus and susceptibility to Bittner virus borne by red blood cells in mice
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 58, p.485 (1967)

156 Neel, J.V., Fajans, S.S., Conn, J.W., Davidson, R.T.: Diabetes mellitus. In: Genetics and epidemiology of chronic diseases
(Neel, J.V., Shaw, M.W., Schull, W.J. eds.)
Government Printing Office (Washington), Public Health Service Publication No. 1163, p.105 (1965)

157 Nerup, J., Binder, C., Bendixen, G.: Autoimmunity in diabetes mellitus
Lancet 2, p.610 (1970)

158 Nerup, J., Ortved Andersen, O., Bendixen, G., Egeberg, J., Poulsen, J.E.: Antipancreatic cellular hypersensitivity in diabetes mellitus
Diabetes 20, p.424 (1971)

159 Nerup, J., Binder, C.: Thyroid, gastric and adrenal autoimmunity in diabetes mellitus
Acta Endocrin. 72, p.279 (Copenhagen) (1973)

160 Nerup, J. et al.: Cellular hypersensitivity to islets antigen(s) different from insulin in diabetes mellitus. In: Immunity and autoimmunity in diabetes mellitus
Bastonie, P.A., Gepts, W. (eds.)
Excerpta Med. (Amsterdam), p.107 (1974)

161 Nerup, J., Ortved Andersen, O., Bendixen, G., Egeberg, J., Gunnarsson, R.: Glucose intolerance and islet damage in mice immunized with homologous endocrine pancreas- a preliminary communication
Horm. Metab. Res. 6, p.173 (1974)

162 Nerup, J., Ortved Andersen, O., Bendixen, G., Egeberg, J., Gunnarsson, R., Kromann, H., Poulsen, J.E.: Cell-mediated immunity in diabetes mellitus
Proc. Roy. Soc. Med. 67, p.506 (Lond.) (1974)

163 Nerup, J., Ortved-Andersen, O., Christy, M., Lyngsoe, J., Poulsen, J., Ryder, L., Nielsen, S., Thomsen, M., Svejgaard, A.: HL-A antigens in diabetes mellitus
Lancet 2, pp.864-66 (1974)

164a Nerup, J., Cathelineau, C., Seignalet, J., Thomsen, M.: In: HLA and disease, p.149
J. Dausset and A. Svejgaard (eds.) (Munksgaard, Copenhagen) (1976)

164b Nerup, J.: HLA-Studies in diabetes mellitus: A review
Adv. Metab. Disord. 9, pp. 263-77 (1978)

165 Nelson, P.G., Pyke, D.A., Cudworth, A.G., Woodrow, J.C., Batchelor, J.R.: Histocompatibility antigens in diabetic identical twins
Lancet 2 (August 2), pp. 7927-7928 (1975)

166 Nerup, J., Christy, M., Egeberg, J.: In: "Immunological Diseases"
3rd ed. M. Samter (ed.)
Little and Brown, Boston (Massachusetts) (1977)

167 Patel, R., Habal, M.B., Wilson, R.E., Birteh, A.G., Moore, F.D.: Histocompatibility (HL-A) antigens and cancer of the breast with antigen HL-A 1
Amer. J. Surg. 124, p.31 (1972)

168 Patel, R., Ansari, A., Covarrubias, C.A.: Leukocyte antigens and disease: II. Association of HLA B8 and HLA BW15 with insulin-dependent diabetes in three different population groups
Metabolism 26 (5), pp.487-92 (1977)

169 Penrose, L.S.: The genetical background of common diseases
Acta genet. 4, p.257 (1953)

170 Petri, M., Nerup, J.: Addison's adrenalitis
Acta Pathol. microbiol. Scand. sect. A, p.381 (1971)

171 Pfeiffer, E.F.: Statik und Dynamik der Insulinsekretion bei Diabetes, Protodiabetes und Adipositas. In: Handbuch des Diabetes mellitus
Ernst F. Pfeiffer (ed.) J.F. Lehmanns Verlag (München) pp.123-158 (1971)

172 Pierce, C.W., Kapp, J.A., Benacerraf, B.: Regulation by the H-2 gene complex of macrophage-lymphoid cell interactions in secondary antibody responses in vitro
J. Exp. Med. 144, p. 371 (1976)

173 Pincus, G., White, P.: On the inheritance of diabetes mellitus
Am. J. med. Science I, p.186 (1933)

174 Platz, P., Ryder, L.P., Staub-Nielsen, L., Svejgaard, A., Thomsen, M., Nerup, J., Christy, M.: HL-A and idiopathic Addison's disease
Lancet 1, p.289 (1974)

175 Pyke, D.A., Nelson, P.G.: Diabetes mellitus in identical twins. In: The genetics of diabetes mellitus (Creutzfeldt, W., Köbberling, J., Neel, J.V., eds.)
Springer Verlag (Berlin, Heidelberg, New York) p.194 (1976)

176 Pyke, D.A., Nelson, P.G.: Diabetes mellitus in identical twins In: The genetics of diabetes mellitus. W. Kreutzfeldt, J. Köbberling, J.V. Neel (eds.)
Springer Verlag (1976), pp.194-202

177 Rapaport, F.T., Chase, R.M.: Homograft sensitivity induction by group A streptococci
Science 145, pp.407-408 (1964)

178 Rege, V., Patel, R., Briggs, W.A.: Leukocyte antigens and diseases. II. Association of HL-A 5 and lymphomas
Am. J. Clin. Pathol. 58, p.14-16 (1972)

179 Rimoin, D.L., Schincke, R.N.: Genetic disorders of the endocrine glands
Mosby (St. Louis) (1971)

180 Roberts, I., Wittingham, S., Mackay, I.R.: Tolerance to an autoantigen thyroglobulin
Lancet 2, pp. 936-40 (1973)

181 Robinson, E., Ben-Hur, N., Zuckerman, H., Newman, Z.: Further immunologic studies in patients with choriocarcinoma and hydatiform mole
Cancer Res. 27, p.1202 (1967)

182 Rolles, C., Rayner, P., MacKintosh, P.: Etiology of juvenile diabetes
Lancet 2, p.230 (1975)

183 Rondeletius, G. (1574): Methodes curandorum omnium morborum corporis humani in tres libra distincta

184 Rosenbloom, A.L., Bianchi, R., Chiu, F.T.W.: Screening for glucose intolerance in siblings of children with diabetes
Metabolism 22, p.351 (1973)

185 Rosenthal, A.S., Shevach, E.M.: Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T-lymphocytes
J. Exp. Med. 138, p.1194 (1973)

186 Ross, M.E., Takashi, O., Brown, K.S., Notkins, A.L.: Genetic and environmental factors influencing the development of diabetes after infection with the M variant of encephalomyocarditis virus
Diabetes 25, No 3, pp. 190-97 (1976)

187 Schernthaner, G., Ludwig, H., Eibl, M., Pacher, M., Mayr, W.R.: HLA system and diabetes mellitus
Schweizer Med. Wo.schr. 106, pp. 514-17 (1976)

188 Schernthaner, G., Ludwig, H., Mayr, W.: Juvenile diabetes mellitus: HLA frequencies dependent of the age of onset of the disease
J. Immunogenet. 3 (2), pp.117-21 (1976)

189 Schernthaner, G., Ludwig, H., Mayr, W.R., Frisch, H.: Evidence for genetic control of anti-insulin immunity in juvenile onset diabetes mellitus
Diabete Metab. 3, pp.117-21 (1977)

190 Schlosstein, L., Terasaki, P.I., Bluestone, R., Pearson, C.M.: High association of an HLA antigen, W27 with ankylosing spondylitis
N. Engl. J. Med. 288, pp. 704-06 (1973)

191 Seignalet, J., Mirouze, J., Jaffiol, C., Selam, J.L., Lapinski, H.: HLA in Graves disease and in diabetes mellitus insulin-dependent
Tissue Antigens 6, p.272 (1976)

192 Shearer, G.M.: Cell-mediated cytotoxicity to trinitrophenyl-modified syngeneic lymphocytes
Eur. J. Immunol. 4, p.527 (1974)

193 Singal, D.P., Blajchman, M.A.: Histocompatibility (HL-A) antigens lymphocytotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus
Diabetes 22, pp.429-32 (1973)

194 Shreffler, D.C., David, Ch.S.: The H-2 major histocompatibility complex and the I immune response region: genetic variation, function and organization
Adv. Immunol. 21, p.125 (1975)

195 Simpson, N.E.: The genetics of diabetes: a study of 233 families of juvenile diabetics
Ann.Hum. Genet. (Lond.) 26, p.1 (1962)

196 Simpson, N.E.: Multifactorial inheritance: a possible hypothesis for diabetes
Diabetes 13, p.462 (1964)

197 Simpson, N.E.: Heritabilities of liability to diabetes when sex and age at onset are considered
Ann. Hum. Genet. (Lond.) 32, p.283 (1969)

198 Simpson, N.E.: Genetic considerations in diabetes mellitus. In: Diabetes mellitus: Diagnosis and treatment Vol. III. S.S.Fajans and K.E. Sussman (eds.)
Amer. Diab. Assoc. (1971)

199 Snell, G.D., Dansset, J., Nathanson, S.
In: Histocompatibility
(New York), Academic (1976)

200 Steinberg, A.G., Wilder, R.M.: A study of the genetic of diabetes mellitus
Am. J. hum. Genet. 4, p.113 (1952)

201a Svejgaard, E., Svejgaard, A., Staub-Nielsen, L., Jacobsen, B.: Some speculations on the association between HL-A and disease based on psoriasis patients and their families
Transplant. Proc. 5, pp. 1797-98 (1973)

201b Svejgaard, A., Jersild, C., Staub-Nielsen, L., Bodmer, W.F.: HL-A Antigens and disease. Statistical and genetical considerations
Tissue Antigens 4, p.95 (1974)

202 Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.: HL-A and disease associations: A survey
Transplant. Rev. 22, pp.3-43 (1975)

203 Svejgaard, A., Ryder, L.P.: Interaction of HLA molecules with non-immunological ligands as an explanation of HLA and disease associations
Lancet 2 (September 11), pp.547-49 (1976)

204 Sushruta Samhita: 2nd ed. Translated into English by K.K. Bishagratna (Varanasi, India) The Chowkhamba Sanskrit Series Vol.II, p.372

205 Tada, G., Taniguchi, M.: Properties of the antigen-specific suppressive T-cell factor in the regulation of antibody response of the mouse
J. Exp. Med. 144, p.713 (1976)

206 Takasugi, M., Terasaki, P.I., Henderson, G., Mickey, M.R., Menk, M., Thompson, R.W.: HL-A antigens in solid tumors
Cancer Res. 33, p.648 (1973)

207 Tattersall, R.B., Pyke, D.A.: Diabetes in identical twins
Lancet 2, p.1120 (1972)

208 Tattersall, R.B., Fajans, S.S.: A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people
Diabetes 24, p.44 (1975)

209 Terasaki, P.I., McClelland, J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins
Nature (Lond.) 204, pp.998-1000 (1964)

210 Then Berg, H.: The genetic aspect of diabetes mellitus
J. Amer. med. Ass. 112, p.1091 (1939)

211 Thompson, M.W., Watson, E.M.: The inheritance of diabetes mellitus an analysis of the family history of 1631 diabetics
Diabetes 1, p.268 (1952)

212 Thomsen, M., Platz, P., Ortved Andersen, O., Christy, M., Lyngsoe, M., Nerup, J., Rasmussen, K., Ryder, L.P., Staub Nielsen, L., Svejgaard, A.: MLC typing in juvenile onset diabetes mellitus (JOD)
Transplant. Rev. 22, pp.125-147 (1975)

213 Thomsen, M., Platz, P., Ortved Andersen, O., Christy, M., Lyngsoe, J., Nerup, J., Rasmussen, K., Ryder, L.P.: MLC typing in juvenile diabetes mellitus and idiopathic Addison's disease
Transplant. Rev. 22, p.125 (1975)

214 Thomsen, M., Platz, P., Ryder, L.P., Svejgaard, A., Ortved Andersen, O., Christy, M., Buschard, K., Christau, B., Kromann, H., Nerup, J.: To be published (1977)

215 Thorsby, E., Engeset, A., Lie, S.O.: HL-A antigens and susceptibility to diseases. A study of patients with acute lymphoblastic leukemia, Hodgkin's disease and childhood asthma
Tissue Antigens 1, p.147 (1971)

216 Oldstone, M.B.A., Dixon, F.J., Mitchell, G.F., McDevitt, H.O.: Histocompatibility-linked genetic control of disease susceptibility. Murine lymphocytic choriomeningitis virus infection
J. Exp. Med. 137, pp.1201-12 (1973)

217 Olefsky, J.M., Reaven, G.M.: Insulin and glucose responses to identical glucose tolerance (oral) tests performed forty-eight hours apart
Diabetes 23, pp.449-53 (1974)

218 Van de Putte, I., Vermylen, C., Decraene, P., Vlietinck, R., van den Berghe, H.: Segregation of HLA B7 in juvenile onset diabetes mellitus
Lancet 2, p.251 (1976)

219 Vladutiu, A.O., Rose, N.R.: Autoimmune murine thyroiditis. Relation to histocompatibility (H-2) type
Science 174, pp.1137-39 (1971)

220 Wakisaka, A., Aizawa, M., Matsimura, N., Nakagawa, E., Nakagawa, S., Itakura, K., Okumo, A., Wagatsuma, Y.: HLA and juvenile diabetes in the Japanese
Lancet2,Oct. 30, p.970 (1976)

221 Walford, R.L., Finkelstein, S., Neerhout, R., Konrad, P., Schaubroin, E.: Acute childhood leukemia in relation to the HL-A human transplantation genes
Nature 225, pp.461-62 (1970)

222 White, P.: The inheritance of diabetes
Med. clin. N. Amer. 49, p.857 (1965)

223 White, S.H., Newcomer, V.D., Mickey, M.R., Terasaki, P.I.: Disturbance of HL-A antigen frequency in psoriasis
N. Engl. J. Med. 287, pp.740-43 (1972)

224 Wilkerson, H.L.C., Krall, L.P.: Diabetes in a New England town
J. Amer. Med. Ass., 135, p.209 (1947)

225 Williams, D., Remington, J.S., Grumet, F.C.: Zitat aus: HLA and disease associations. F.C. Grumet (submitted for publication)
Transplant. Proc. Vol IX, No. 4 (December) (1977)

226 Wisnant, J.K., Mann, D.L., Rogentine, G.N., Robbins, J.B.: Human cell-surface structures related to Haemophilus influencae type B disease
Lancet 2, p.895 (1971)

227 Woodrow, J.C.: HL-A 27 and Reiter's Syndrome
Lancet 2, pp.671-72 (1973)

228 Woolf, B.: On estimating the relation between blood-groups and disease
Am. Hum. Genet. 19, pp.251-53 (1955)

229 Wrenshall, G.A., Bogoch, A., Ritchie, R.C.: Extractable insulin of pancreas. Correlation with pathological and clinical findings in diabetic and non-diabetic cases
Diabetes 1, p.87 (1952)

230 Yasuda, N., Kimura, M.A.: Gene-counting method of maximum likelihood for estimating gene frequencies in ABO and ABO-like systems
Am. Hum. Genet. 31, pp.409-21 (London) (1968)

231 Zachariae, H., Hjortshoj, A., Kissmeyer-Nielsen, F.: Reiter's disease and HL-A 27
Lancet 2, pp.565-566 (1973)

232 Zamecnik, P.C., Keller, E.B.: Relation between phosphate energy donors and incorporation of labeled aminoacids in proteins
J. Biol. Chem. 209, p.337 (1954)

233 Zervas, J.D., Delamore, I.W., Israels, M.C.G.: Leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease
Lancet 2, pp.634-35

234 Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C.: Restriction of in vitro T-cell- mediated cytotoxicity in lymphocytic chorio-meningitis within a syngeneic or semi-allogeneic system
Nature (Lond.) 248, pp.701-02 (1974)

235 Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C.: H-2 compatibility requirement for T-cell-mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus
J. Exp. Med. 141, p.1427 (1975)

(Nachtrag)

236 Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen
VII. Auflage (1968), Geigy AG Basel

237 Cerasi, E., Luft, R.: Clinical diabetes and theories of pathogenesis. In: Handbook of physiology, sect.VII, Endocrinology Vol I, Endocrine pancreas
R.O. Greep, E.B. Astwood (eds.)
Am. Physiol. Soc. (Wash. D.C. 1972)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. E. A l b e r t für die geistige Anregung sowie die tatkräftige und geduldige Unterstützung bei meiner Arbeit danken.

Ganz besonders möchte ich auch Herrn Priv. Doz. Dr. R. L a n d g r a f aus der II. Med. Klinik der Universität danken, der durch sein stets wohlwollendes Entgegenkommen und durch seine aktive Mitarbeit wesentlich zum Zustandekommen dieser Studie beigetragen hat.

Nicht zuletzt danke ich auch allen Mitarbeitern des Gewebetypisierungslabors, sowie Frau Dr. H o f m a n n aus der Kinderpoliklinik der TU München, für ihre Mithilfe, ohne die eine Durchführung der aufwendigen Untersuchungen unmöglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Am 31.05.1952 wurde ich als erster von zwei Söhnen des Dr. med. Eberhard Lander, Facharzt für Innere Medizin, Leitender Medizinaldirektor, und seiner Ehefrau Dr. med. Rosmarie Lander, geb. Meisinger, praktische Ärztin, in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule an der Leipziger Straße von 1958 bis 1962 folgte der Übertritt zum Wittelsbacher Gymnasium, wo ich im Juni 1971 die Reifeprüfung ablegte.

Im Herbst 1971 absolvierte ich das Krankenpflegepraktikum für Mediziner gemäß der Approbationsordnung für Ärzte im Staatl. Krankenhaus an der Lazarettstraße, damals "Herzzentrum im Aufbau". Darüber hinaus praktizierte ich mehrere Wochen in verschiedenen Abteilungen des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in Nymphenburg.

Nach einem einsemestrigen Studium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität in München immatrikulierte ich mich ebendort in der Fakultät für Humanmedizin im Sommersemester 1972. Am 16.10.1974 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und wechselte anschließend zur Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München über. Während des klinischen Studienabschnitts legte ich im August 1975 den ersten und im August 1977 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Zwischenzeitlich famulierte ich acht Wochen lang in der Versorgungsärztlichen Untersuchungsstelle München in der Martiusstraße.

Am 10. Oktober 1978 bestand ich den schriftlichen Teil und am 13. Oktober 1978 den mündlichen Teil des dritten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung. Am 23. Oktober 1978 erhielt ich vom Bayerischen Staatsministerium des Innern die Approbation als Arzt.

Seit dem 02.01.1979 bin ich als Assistenzarzt an der III. Medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing angestellt.